

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ**  
**VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**  
**CON ÉNFASIS EN FARMACOLOGÍA**

**EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA FARMACOLÓGICA**  
**Y ANTIOXIDANTE DE SEIS EXTRACTOS METANÓLICOS DE PLANTAS**  
**PERTENECIENTES A LA FAMILIA FABACEAE**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE**  
**MAGISTER EN CIENCIAS BIOMÉDICAS CON ÉNFASIS EN**  
**FARMACOLOGÍA**

**ELABORADA POR**  
**LEANDRA YOLANDA GÓMEZ LEIJA**

**PROFESOR ASESOR**  
**DRA GISELA MONTENEGRO N**  
**PROFESORA TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE**  
**FARMACOLOGÍA FACULTAD DE MEDICINA**

**PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMA**

**AGOSTO DE 2013**

Obsequio

23177

15 NOV 2013

57

### DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico con mucho amor a la persona que estuvo siempre a mi lado, por cuidar de mi hogar y ayudarme durante estos cuatro largos años, a mi amado esposo Elías.

A mis hijos Ezequiel y Elisa por esperar que mamá llegara y muchas veces se quedaron dormidos en la espera.

## AGRADECIMIENTOS

A quien todo lo puede al dador de la vida a Jesus mi Señor y Salvador  
¡Ebenazer!

A mi querida suegra por ayudarme e impulsarme a terminar la maestria

A todos mis compañeros del Departamento de Farmacología a Gisela por  
asesorar mi trabajo de tesis a Estela por su constante apoyo a Juan por  
sus correcciones oportunas a Eily por su informatica ayuda a la profesora  
Melita porque de ella aprendi mucho y a Ivonne

Al todo el Departamento de Microbiologia por su total e incondicional  
apoyo en especial a la Magister Carmen I Espino al Prof Rojas a las  
Doctoras Mireya Argentina Nora y al Sr Gaspar

Al CIFLORPAN especialmente al Dr Olmedo porque siempre conte con su  
ayuda y al Dr Gupta

A la SENACYT porque a traves del apoyo economico a los proyectos de  
investigacion FID11 90 y INF11 54 se pudo realizar este trabajo de tesis

Al Laboratorio Central de Referencia en Salud Publica de Panama

A la seccion de Microbiologia del Laboratorio Clinico del Complejo  
Hospitalario Doctor Arnulfo Arias Madrid en especial al Lic Solis

A todos mis compañeros de la maestria que de una u otra forma me  
ayudaron durante la tesis

A todos GRACIAS

## ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
<b>Resumen</b>	1
<b>Summary</b>	2
<b>Introducción</b>	3
I Uso de plantas medicinales como fuente de nuevos farmacos	3
II Importancia de las plantas medicinales en el descubrimiento de farmacos	6
III Características generales e importancia de la familia Fabaceae	9
IV Características botánicas y propiedades farmacológicas descritas para las fabáceas incluidas en el estudio	12
A <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose	12
B <i>Dalbergia brownei</i> (Jacq ) Schinz	17
C <i>Diploptropis purpurea</i> (Rich ) Amshoff	19
D <i>Machaenum</i> sp	21
E <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban	23
F <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks	26
V Campo de estudio de las plantas medicinales	29
<b>Antecedentes</b>	31
I Evaluación etnobotánica a través del tamizado antimicrobiano	31
II Terapia antimicrobiana historia actualidad y perspectivas	32
III Evaluación farmacológica a través del Screening Hipocrático	35
IV Terapia antioxidante conceptos importancia y actualidad	36
A Plantas con acción antioxidante	44



<b>Justificaciones</b>	47
<b>Objetivos</b>	50
I Generales	50
II Especificos	50
<b>Metodologia</b>	52
I Criterios de seleccion de las plantas incluidas en el estudio	52
II Esquema General de Trabajo	52
III Recoleccion e Identificación del material vegetal	54
IV Procesamiento del material vegetal	55
V Preparacion de los extractos	55
VI Determinacion de la actividad antimicrobiana	56
A Equipos materiales y reactivos utilizados para la determinacion de la actividad antimicrobiana	56
B Actividad antibacteriana	57
1 Microorganismos empleados y condiciones de cultivo	57
2 Control de calidad aplicado a las cepas bacterianas empleadas	58
3 Preparacion de las soluciones para el tamizado de actividad antimicrobiana de los extractos	59
4 Preparacion de la solucion bacteriana (0.5 Mc Farland)	60
5 Tamizado de la actividad antimicrobiana	60
6 Identificacion de la Concentracion Inhibitoria Minima (CIM) y la Concentracion Bactericida Minima (CBM)	63
C Evaluacion de la actividad antimicotica	65
1 Preparacion de las cepas de los hongos	65
2 Condiciones de crecimiento de los hongos	66

3	Determinacion de la actividad antimicótica	66
VII	Actividad farmacologica	68
A	Screening Hipocratico	68
1	Condiciones y requisitos del ensayo	68
2	Equipos materiales y reactivos utilizados para la determinacion de la actividad farmacologica	69
3	Procedimiento	69
4	Descripcion de los parametros a evaluar en el screening farmacológico	70
5	Medicion de los parametros incluidos dentro del screening farmacologico	75
VII	Actividad Antioxidente	76
A	Equipos materiales y reactivos utilizados para la actividad antioxidente	77
B	Cromatografia de capa fina preliminar (CCF) para la identificacion de flavonoides	78
1	Fundamento de la tecnica	80
2	Procedimiento	82
C	Ensayo Autobiografico de actividad antioxidente utilizando DPPH	86
1	Fundamento de la tecnica	86
2	Procedimiento	86
D	Porcentaje de inhibicion frente a DPPH por un metodo en microplato de 96 pocillos utilizando un lector ELISA	87
1	Fundamento de la tecnica	87
2	Procedimiento	87
E	Evaluacion estadistica de los resultados	89

<b>Resultados y discusión</b>	<b>90</b>
<b>I De la actividad antibacteriana</b>	<b>90</b>
A <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	90
B <i>Dalbergia brownnei</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	98
C <i>Diploporis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallo)	101
D <i>Machaenum sp</i> (tallo)	103
E <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban (raiz)	107
F <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks (raquis infructescencia)	110
<b>II De la actividad antimicótica</b>	<b>115</b>
A <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	116
B <i>Dalbergia brownnei</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	118
C <i>Diploporis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallo)	119
D <i>Machaenum sp</i> (tallo)	119
E <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban (raiz)	120
F <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks raquis de infructescencia	120
<b>III De la evaluación farmacológica (Screening Hipocrático)</b>	<b>121</b>
A Evaluación farmacológica	121
1 <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	121
2 <i>Dalbergia brownnei</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	123
3 <i>Diploporis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallo)	124
4 <i>Machaenum sp</i> (tallo)	125
5 <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban (raiz)	126
6 <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks (raquis de infructescencia)	126

IV De la actividad antioxidante	129
A <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	129
B <i>Dalbergia brownii</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	136
C <i>Diplotropis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallos)	142
D <i>Machaenum</i> sp (tallos)	147
E <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban (raíz)	152
F <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks (raquis de infructescencia)	157
<b>Discusión conjunta</b>	169
I <i>Albizia adinocephala</i> Britt & Rose (corteza)	169
II <i>Dalbergia brownii</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	172
III <i>Diplotropis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallos)	174
IV <i>Machaenum</i> sp (tallos)	175
V <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban (raíz)	177
VI <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks (raquis infructescencia)	178
<b>Conclusiones</b>	181
<b>Recomendaciones</b>	184
<b>Bibliografía</b>	185
<b>Infografía</b>	202
<b>Anexos</b>	203

## INDICE DE CUADROS

No	CUADRO	PÁGINA
I	Agentes derivados de productos naturales aprobados por la FDA de los EE UU entre los años 2001 2010	5
II	Reportes de actividad antimicrobiana de plantas del genero <i>Albizia</i>	14
III	Reportes de estudios de actividad antimicrobiana realizados a diferentes especies del genero <i>Machaenium</i>	21
IV	Descripcion de estudios realizados para la identificación de compuestos bioactivos de diferentes especies del genero <i>Ormosia</i>	27
V	Tipo funcion y cofactores de los antioxidantes endogenos	38
VI	Tipo y funcion de los antioxidantes endogenos	39
VII	Tipo y funcion de los antioxidantes exogenos	40
VIII	Sitio donde ejercen su accion las sustancias AOX	41
IX	Informacion relacionada con la recoleccion e identificacion de las plantas empleadas	54
X	Descripcion de los parametros a evaluar en el Screening Farmacologico	71
XI	Criterios para la evaluacion de los parámetros utilizados en el Screening Farmacológico	76
XII	Cromatograma de referencia 1	83
XIII	Cromatograma de referencia 2	84
XIV	Estructuras quimicas tipo flavonoides que se identifican por colores en los cromatogramas de referencia	85

No	CUADRO	PAGINA
XV	Actividad antibacteriana del extracto metanolico de la corteza de <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose	91
XVI	Descripcion de estudios de actividad antibacteriana para diferentes especies del genero <i>Albizia</i>	97
XVII	Actividad antibacteriana del extracto metanolico de las hojas de <i>Dalbergia browniei</i> (Jacq ) Schinz	99
XVIII	Actividad antibacteriana del extracto metanolico del tallo de <i>Diploptropis purpurea</i> (Rich ) Amshoff	102
XIX	Actividad antibacteriana del extracto metanolico del tallo de <i>Machaenum sp</i>	105
XX	Actividad antibacteriana del extracto metanolico de la raiz de <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban	108
XXI	Actividad antibacteriana del extracto metanolico de raquis infructescencia de <i>Ormosia coccinea</i>	111
XXII	Perfil de la cepa KPC aislada de pacientes del CHAAM en el ano 2011	113
XXIII	Resultados de la actividad antimicotica de los extractos metanolicos a la dosis de 1000 µg/mL	115
XXIV	Actividad antifungica para diferentes especies del genero <i>Albizia</i>	117
XXV	Resultados de la actividad farmacológica de los diferentes extractos metanolicos ensayados a la dosis de 1 000 mg/kg a traves del Screening farmacologico	122
XXVI	Resultados de CCF del extracto metanólico de <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	130
XXVII	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiográfico a los diferentes tiempos para <i>Albizia adinocephala</i>	132
XXVIII	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH para <i>Albizia adinocephala</i>	133

No	CUADRO	PAGINA
XXIX	Resultados de CCF del extracto metanolico de <i>Dalbergia browni</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	137
XXX	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiografico a los diferentes tiempos para <i>Dalbergia browni</i>	140
XXXI	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH para <i>Dalbergia browni</i>	141
XXXII	Resultados de CCF del extracto metanolico de <i>Diplotropis purpurea</i> (Rich) Amshoff (tallo)	143
XXXIII	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiografico a los diferentes tiempos para <i>Diplotropis purpurea</i>	144
XXXIV	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH para <i>Diplotropis purpurea</i>	146
XXXV	Resultados de CCF del extracto metanolico de <i>Machaenum sp</i> (tallo)	148
XXXVI	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiografico a los diferentes tiempos para <i>Machaenum sp</i>	149
XXXVII	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH para <i>Machaenum sp</i>	151
XXXVIII	Resultados de CCF del extracto metanolico de <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban	153
XXXIX	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiografico a los diferentes tiempos para <i>Macroptilium lathyroides</i>	155
XL	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH para <i>Macroptilium lathyroides</i>	156
XLI	Resultados de ccf del extracto metanolico de <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks (raquis de infructescencia)	158
XLII	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiografico a los diferentes tiempos para <i>Ormosia coccinea</i>	159

No	CUADRO	PAGINA
XLIII	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH para <i>Ormosia coccinea</i>	161
XLIV	Manchas observadas en el cromatograma para la identificacion de flavonoides	163
XLV	Resultados de las manchas observadas en el ensayo autobiografico a los diferentes tiempos	164
XLVI	Resultados de la actividad antioxidante por el metodo DPPH	166
XLVII	Actividad antioxidante por los dos parámetros evaluados	167
XLVIII	Resultados de las actividades evaluadas en los seis extractos	170



## INDICE DE FIGURAS

No	FIGURA	PAGINA
1	Fotografia de <i>Albizia adinocephala</i>	12
2	Fotografia de <i>Dalbergia brownel</i>	17
3	Fotografia de <i>Diplotropis purpurea</i>	19
4	Fotografia de <i>Machaenum sp</i>	20
5	Fotografia de <i>Macroptilium lathyroides</i>	23
6	Fotografia de <i>Ormosia coccinea</i>	26
7	Esquema general de trabajo	53
8	Cepas en Platos Petri en agar sangre obtenidas de muestras clinicas aisladas de pacientes hospitalizados en el CHAAM A KPC B MRSA	58
9	Preparacion de los platos Petri conteniendo los extractos metanolicos disueltos en agar nutritivo	59
10	Lectura de carga bacteriana a 0.5 McFarland	60
11	Tecnica de tamizado de la actividad antimicrobiana de los extractos A Preparacion de los platos conteniendo los extractos B Siembra de las cepas a evaluar	61
12	Esquema empleado para el conteo de UFC para el ensayo de tamizado antimicrobiano	62
13	Diluciones empleadas para la determinacion de la CIM y de la CBM de los extractos	63
14	Determinacion del crecimiento bacteriano a traves de la tecnica de macrodilucion en tubo aplicando el criterio de observacion de la turbidez	64

No	FIGURA	PAGINA
15	A Afectacion de la turbidez y color del extracto en la identificacion de la CIM B Confirmacion del valor de la CIM a traves de la tecnica de sembrado	65
16	A Demostracion de plato Petri donde se observa la ubicacion de los controles positivos negativos y los el extracto para determinar la actividad antimicotica de los extractos B Medicion de los halos de inhibicion producto de la actividad antimicotica de los extractos	67
17	Fenil benzo y pirona (o fenil y cromona) estructura quimica de los flavonoides	79
18	Distintas subfamilias de flavonoides	79
19	Estructura quimica de la quercetina	81
20	Estructura quimica del kaempferol	81
21	Concentracion inhibitoria minima del extracto metanolico de la corteza de <i>Albizia adinocephala</i> para las bacterias utilizadas	92
22	Porcentajes de inhibicion bacteriana presentada por los extractos evaluados frente a los diferentes tipos de cepas ensayadas	93
23	Concentracion inhibitoria minima del extracto metanolico del tallo de <i>Diplotropis purpurea</i> para las bacterias utilizadas	103
24	Concentracion inhibitoria minima del extracto metanolico del tallo de <i>Machaenum sp</i> para las bacterias utilizadas	104
25	Concentracion inhibitoria minima del extracto metanolico de la raiz de <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban para las bacterias utilizadas	109

No	FIGURA	PAGINA
26	Concentracion inhibitoria minima del extracto metanolico de raquis infructescencia de <i>Ormosia coccinea</i> para las bacterias utilizadas	110
27	Grafica de actividad antimicotica del extracto metanolico de la corteza de <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose	116
28	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner et al 2003 B Cromatograma del extracto metanolico de la raiz de <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	130
29	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0 5%) fase reversa (metanol agua 8 2) para <i>Albizia adinocephala</i> a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	132
30	Actividad atrapadora de radicales libres de la corteza de <i>Albizia adinocephala</i> (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)	134
31	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner et al 2003 B Cromatograma del extracto metanolico de <i>Dalbergia brownii</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	137
32	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0 5%) fase reversa (metanol agua 8 2) para <i>Dalbergia brownii</i> a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	139
33	Actividad atrapadora de radicales libres de las hojas de <i>Dalbergia brownii</i> (Jacq ) Schinz (hojas)	141
34	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner et al 2003 B Cromatograma del extracto metanolico de la raiz de <i>Diplotropis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallos)	143
35	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0 5%) fase reversa (metanol agua 8 2) para <i>Diplotropis purpurea</i> a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	144

No	FIGURA	PAGINA
36	Actividad atrapadora de radicales libres del tallo de <i>Diplotropis purpurea</i> (Rich ) Amshoff (tallo)	145
37	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner <i>et al</i> 2003 B Cromatograma del extracto metanolico del tallo de <i>Machaenum sp</i>	147
38	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0.5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para <i>Machaenum sp</i> a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	149
39	Actividad atrapadora de radicales libres del tallo de <i>Machaenum sp</i>	150
40	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner <i>et al</i> 2003 B Cromatograma del extracto metanolico de la raiz de <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban	152
41	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0.5%) fase reversa (metanol agua 8:2) para <i>Macroptilium lathyroides</i> a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	154
42	Actividad atrapadora de radicales libres de la raiz de <i>Macroptilium lathyroides</i> (L ) Urban	156
43	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner <i>et al</i> 2003 B Cromatograma del extracto metanolico del raquis de infructescencia de <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks	157
44	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0.5%) fase reversa (metanol agua 8:2) para <i>Ormosia coccinea</i> a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	159

No	FIGURA	PAGINA
45	Actividad atrapadora de radicales libres del raquis de infructescencia de <i>Ormosia coccinea</i> (Aubl ) Jacks	160
46	A Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides tomado de Wagner <i>et al</i> 2003 B Cromatograma de los extractos metanolicos evaluados	162
47	Cromatograma para la identificacion cualitativa de la actividad de DPPH (0.5%) fase reversa (metanol agua 8:2) a diferentes tiempos A Lectura a los 30 minutos B Lectura a los 300 minutos	164
48	Porcentajes de inhibicion alcanzados por los diferentes extractos metanolicos evaluados	165

## ABREVIATURAS

a C	Antes de Cristo
AAC	Acetilasa
ANT	Acetilaminotransferasa
AOX	Antioxidante
ATCC	American Type Culture Collection
BLEE	B lactamasa de espectro extremo
CAT	Catalasa
CBM	Concentraci3n Bactericida M3nima
CCF	Cromatograf3a de capa fina
CE <sub>50</sub>	Concentraci3n efectiva 50
CHAAM	Complejo Hospitalario Dr Arnulfo Arias Madrid
CIFLORPAN	Centro de Investigaciones Farmacogn3sticas de la Flora Panamena
CIM	Concentraci3n Inhibitoria M3nima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Estandares Cl3nicos y de Laboratorio)
CMC	Carboximetilcelulasa
d C	Despu3s de Cristo
DMSO	Dimetilsulfoxido
DPPH	2 2 difenil 1 picrilhidracilo
DPPH H	2 2-difenil 1 picrilhidracilo reducido
EE UU	Estados Unidos de Norteamerica
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva cr3nica
ERN	Especies reactivas de n3tr3geno
ERN	Especies reactivas de n3tr3geno
ERO	Especies reactivas de ox3geno
FDA	Food and Drug Administration
G ( )	Bacteria Gram negativa
G (+)	Bacteria Gram positiva
GPx	Glutathion peroxidasa

GSH	Glutation reductasa
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxido de hidrogeno
HO <sub>2</sub>	Hidroperoxilo
INNTI	Inhibidor no nucleosido de la transcriptasa inversa
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> productora de carbapenemasa
M6G	Morfina-6-glucuronido
mm	Milímetros
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente
MTC	Medicina tradicional china
NCI	Instituto Nacional del Cancer
NF κB	Actor nuclear κB
NIH	National Health Institute (Instituto Nacional de Salud)
NO	Oxido nitríco
NP	Difenilboriloxietilamina
O <sub>2</sub>	Superoxido
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxígeno singulete
O <sub>3</sub>	Ozono
OD	Densidad optica
OMS	Organizacion Mundial de la Salud
ONOO	Peroxinitrito
PEG	Polietilenglicol
Rf	Factor de retencion
RL	Radicales libres
SOD	Superóxido dismutasa
STRI	Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales
UFC/mL	Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias
UV	Ultravioleta
µg/mL	Microgramos por mililitro

## RESUMEN

### EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA FARMACOLÓGICA Y ANTIOXIDANTE DE SEIS EXTRACTOS METANÓLICOS DE PLANTAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA FABACEAE

Tradicionalmente las plantas constituyen una fuente importante en la búsqueda de moléculas farmacológicamente activas para el tratamiento de diversas patologías como son las causadas por microorganismos y por el daño oxidativo. Se realizó un estudio a 6 extractos metanólicos de plantas de la Familia Fabaceae: *Albizia adinoccephala* (corteza), *Dalbergia brownii* (Jacq.) Schinz (hojas), *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff (tallo), *Machaerum* sp (tallo), *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (raíz) y *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks (raquis de infructescencia), en las que se determinó mediante macrodilución la CIM y la CBM para cepas no resistentes como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y resistentes como KPC y MRSA. La actividad antimicrobica frente a *Candida albicans*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Aspergillus niger* y *Cryptococcus neoformans* fue evaluada por difusión en agar.

La determinación de flavonoides se realizó mediante cromatografía de capa fina y la actividad antioxidante por autografía y el porcentaje de inhibición frente a DPPH mediante un lector de ELISA.

Los resultados indican que el extracto de *A. adinoccephala* es el único que no posee flavonoides pero fue el único que presentó actividad frente a *Penicillium* sp, *Aspergillus niger* y *E. coli*. Todos salvo *D. brownii* y *D. purpurea* son activos frente a *B. subtilis*. Por otro lado solo *A. adinoccephala*, *Machaerum* sp y *O. coccinea* fueron activos contra *S. aureus* y MRSA, mientras que *D. purpurea*, *Machaerum* sp y *O. coccinea* fueron activos contra *K. pneumoniae*, no resistente solo *O. coccinea* fue activo contra KPC. *Dalbergia brownii* (Jacq.) Schinz no presentó actividad antimicrobiana.

En la actividad antioxidante no se observó diferencia significativa en comparación con los controles: quercetina y ácido clorogénico salvo para los extractos de *Macroptilium* y *Albizia*. Mientras que en la autografía aunque todos dieron activos la *Ormosia* fue la única que mostró igual actividad que el control (quercetina).

La actividad farmacológica evaluada por el Screening Hipocrático demostró que ninguno de los extractos presentó toxicidad solo *Dalbergia*, *Macherum* y *Ormosia* dieron indicios de analgesia.

**Palabras claves:** Familia Fabaceae, concentración inhibitoria mínima, flavonoides, actividad antioxidante, autografía, Screening Hipocrático.



## SUMMARY

### EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY PHARMACOLOGICAL AND ANTIOXIDANT METHANOL EXTRACTS SIX PLANTS BELONGING TO THE FAMILY FABACEAE

Plants traditionally are a major source in finding pharmacologically active molecules for the treatment of various pathologies such as those caused by microorganisms and oxidative damage

In view of this we conducted a study of six methanolic extract of plants belonging to Fabaceae family including *Albizia adinocephala* (bark) *Dalbergia brownii* (Jacq) Schinz (leaves) *Diplotropis purpurea* (Rich) Amshoff (stem) *Machaenum* sp (stem) *Macroptilium lathyroides* (L) Urban (root) and *Ormosia coccinea* (Aubl) Jacks (infructescence rachis) Our study involved the determination of MIC and MBC using macrodilution method in wild strains such as *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* *Klebsiella pneumoniae* *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis* and other resistant strains as KPC and MRSA Antifungal activity against *Candida albicans* *Penicillium* sp *Fusarium* sp *Aspergillus niger* and *Cryptococcus neoformans* was assessed by agar diffusion

Flavonoids determination was performed using thin layer chromatography and the antioxidant activity by autography and percent inhibition against DPPH by an ELISA reader

The results indicate that the extract of *A. adinocephala* is the only one who has not flavonoids but it shown activity against *Penicillium* sp *Aspergillus niger* and *E. coli* All extracts were active against *B. subtilis* except *D. brownii* and *D. purpurea* Interestingly *A. adinocephala* *Machaenum* sp and *O. coccinea* were active against MRSA and *S. aureus* while *D. purpurea* *Machaenum* sp and *O. coccinea* were active against *K. pneumoniae* non resistant and only *O. coccinea* was active against KPC *Dalbergia brownii* (Jacq) Schinz did not shown antimicrobial activity

Antioxidant activity was not observed significant difference compared with controls quercetin and chlorogenic acid extracts except *Macroptilium* and *Albizia* While in the autography although they all assets *Ormosia* was the only one showing just the control activity (quercetin)

In the pharmacological activity evaluated by the Hippocratic Screening showed that none extract showed toxicity only *Dalbergia* *Ormosia* and *Machenium* shown analgesic property

**Keywords** Family Fabaceae minimum inhibitory concentration flavonoids antioxidant activity autography Hippocratic Screening

## INTRODUCCIÓN

### I USO DE PLANTAS MEDICINALES COMO FUENTE DE NUEVOS FARMACOS

Historicamente el uso de las plantas como medicamentos se registra desde la edad del Paleolitico Medio hace unos 60 000 anos dando con ello inicio a una forma de terapia tradicional (Fabricant *et al* 2001) Alrededor de 1524 ya existia la necesidad de descubrir el componente activo esencial de un tratamiento ya fuera de origen animal mineral o vegetal Oficialmente esta busqueda de las sustancias virtuosas se inicio en la decada de 1780 con el trabajo de Scheele sobre los acidos organicos presentes en las plantas Y es asi como a inicios del siglo XIX la busqueda de principios activos en plantas medicinales reconocidas se intensifica En un periodo de quince anos aproximadamente la investigacion llevo al descubrimiento de una serie de alcaloides activos importantes biologicamente como lo son la morfina la atropina la papaverina y la codeina Posteriormente estos se convertirian en la piedra angular de muchos aspectos interesantes en el descubrimiento de farmacos (Cordell 2000)

En la decada de los noventa a nivel mundial habia 119 compuestos de 90 plantas que fueron usadas como agentes medicinales (Farnsworth *et al* 1985 En Cordell 2000) De esta manera significativamente el 77% de estos

compuestos se obtuvieron como resultado de examinar el uso etnobotánico las plantas. No obstante, es evidente que el número de plantas utilizadas como agentes medicinales en el comercio mundial es desconocido, ya que solo se manejan cifras que se aproximan a la realidad. Así, por ejemplo, se sabe que al menos 1 000 plantas son usadas en China (Duke y Ayensu, 1985. En Cordell, 2000).

Aunado a esto, las modificaciones realizadas a las moléculas (área conocida como la química orgánica) de origen natural con el fin de mejorar la actividad o la selectividad y reducir efectos secundarios o toxicidad, creció favorablemente a finales del siglo XIX. Así, podemos mencionar como ejemplo de modificaciones a la aspirina, que fue uno de los primeros y más importantes de estos productos naturales modificados químicamente, y que recientemente celebró 100 años como una entidad comercial. Pero también podemos mencionar que hay moléculas de importancia en la actualidad que no necesitan ser modificadas grandemente para ser activas, como es el Taxol y el Taxotere, compuestos usados en la terapia anticáncer (Cordell, 2000).

La mitad de los productos farmacéuticos más vendidos en 1991 se basaban en un precursor del producto natural o farmacóforo (O'Neill y Lewis, 1993. En Cordell, 2000). Al mismo tiempo, son interesantes los análisis realizados ante la Food and Drug Administration (FDA) que señalan que en un periodo de 12 años que cubre el periodo de 1983 a 1994, se encontró que 157 de los 520 fármacos, es decir, un 30%, fueron obtenidos a partir de productos naturales o de sus derivados (Cragg *et al.*, 1997).

Finalmente basados en este mismo contexto, como se observa en el cuadro I, quince sustancias han sido aprobadas en la primera década del siglo veintiuno, por la FDA, de las cuales diez son nuevas entidades moleculares, de origen natural. Pese a que varios compuestos eran bien conocidos.

**Cuadro I.** AGENTES DERIVADOS DE PRODUCTOS NATURALES, APROBADOS POR LA FDA DE LOS EE.UU ENTRE LOS AÑOS 2001-2010.

Año de aprobación	Nombre genérico	Planta	Compuesto natural	Nombre comercial	Indicación
2001	Galantamina	<i>Galanthus woronowii</i>	Galantamina	Razadyne®	Demencia asociada con la enfermedad de Alzheimer
2002	Nitisinona	<i>Callistemon citrinus</i>	Leptospermona	Orfadin®	Tirosinemia hereditaria tipo 1
2003	Miglustat	<i>Morus alba</i>	1-deoxynojirimycin	Zavesca®	La enfermedad de Gaucher tipo 1
2004	Tiotropium bromide	<i>Atropa belladonna</i>	Atropina	Spiriva®	EPOC y exacerbación de la EPOC
2004	Cloruro trospiumb	<i>Atropa belladonna</i>	Atropina	Sanctura®	Vejiga hiperactiva
2004	Solifenacina	<i>Cinchona officinalis</i>	Quinine	Vesicare®	Vejiga hiperactiva
2005	Paclitaxel	<i>Taxus brevifolia</i>	Paclitaxel (taxol)	Abraxane®	Cáncer de mama
2006	Sinecatequinas	<i>Camelia Sinensis</i>	Fenoles del té verde	Veregen®	Verrugas genitales
2006	Nabilona	<i>Cannabis sativa</i>	$\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol	Cesamet®	Náuseas inducidos por quimioterapia
2008	Bromuro de metilnaltrexona	<i>Papaver somniferum</i>	Morfina	Relistor®	Estreñimiento por opioides
2008	Tetrabenazina	<i>Cephaelis ipecacuanha</i>	Emetina	Xenazine®	De Huntington asociado al cólera

Año de aprobación	Nombre genérico	Planta	Compuesto natural	Nombre comercial	Indicación
2009	Artemeter y lumefantrina	<i>Artemisia annua</i>	Artemesina	Coartem®	Malaria
2009	Colchicina	<i>Colchicum autumnale</i> , L.	Colchicines	Colcrys®	Gota
2010	Cabazitaxel	<i>Taxus brevifolia</i>	Paclitaxel (taxol)	Jevtana®	Hormona refractario de próstata metastásico
2010	Dextrometorfano y quinidina	<i>Papaver somniferum</i> <i>Cinchona</i>	Morfina y quinidina	Nuedexta™	Afectación pseudobulbar
2010	Capsaicina	<i>Capsicum sp.</i>	Capsaicina	Qutenza®	Neuralgia postherpética

Tabla modificada a partir de Kinghorn *et al.*, 2011.

## II. IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN EL DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS

Los productos naturales han proporcionado y seguirán proporcionando, los materiales esenciales para la existencia del ser humano, es así que son útiles para la alimentación, la fabricación de muebles, ropa, colorantes, tintas para escribir, utensilios de trabajo y armas, además de ser usados como fuente para la obtención de fármacos para el tratamiento de numerosas enfermedades de interés para el hombre.

En países que poseen alta biodiversidad, como es el caso de Panamá, resulta de especial interés el estudio farmacológico de su flora, considerando como fuente de estudio todas las partes de un vegetal, para la obtención de extractos y de sustancias puras que puedan ser aisladas y al mismo tiempo

encontrar moléculas de interés terapéutico (Ortiz *et al* 2009)

Por lo cual diversos métodos se han utilizado para adquirir compuestos para el descubrimiento de nuevos fármacos a partir de diferentes fuentes naturales dentro de todos estos métodos el aislamiento a partir de plantas sigue siendo un importante método para encontrar compuestos como fuente de nuevos medicamentos (Balunas 2005)

Esta área resulta ser muy atractiva para las compañías farmacéuticas y para las organizaciones de financiación que pretenden encontrar moléculas con actividad novedosa. Es así como en los años 2001 y 2002 aproximadamente una cuarta parte de los medicamentos más vendidos en todo el mundo eran productos naturales o derivados de productos naturales (Butler 2004). De relevancia son los reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la cual menciona que el 65% de la población del mundo (Nielsen *et al* 2012) ha incorporado el uso de plantas medicinales en la atención primaria de salud como una alternativa a los problemas de salud lo cual está adquiriendo más importancia en las sociedades desarrolladas entre los interesados en una vida más sana (Joray *et al* 2011)

En los últimos años 35 000 especies de plantas se utilizan con fines medicinales en todo el mundo. Y de los medicamentos industriales más importantes hoy en día se obtienen de unas 90 especies de plantas. En los países en desarrollo los remedios tradicionales se basan generalmente en mezclas de plantas recolectadas de la naturaleza (Konate *et al* 2012)

La importancia de la utilización de plantas para la obtención de nuevos fármacos alcanza objetivos específicos como

1 Aislar los compuestos bioactivos para uso directo como fármacos por ejemplo la digoxina la digitoxina la morfina la reserpina el taxol la vinblastina y la vincristina

2 Aislar compuestos bioactivos a partir de las estructuras ya conocidas como lo son los compuestos de plomo usados para semisíntesis los cuales generan sustancias de mayor o menor actividad además de aumentar o disminuir la toxicidad de las sustancias por ejemplo metformina nabilona oxicodona y otros narcóticos analgésicos (Fabricant y Farnsworth 2001) En este punto podemos mencionar que las estructuras obtenidas a partir de plantas conducen a la optimización de los químicos medicinales y sintéticos ya que proporcionan pistas de nuevas entidades químicas (Butler 2004 Newman *et al* 2003) De tal manera que aproximadamente el 28% de estas entidades entre 1981 y 2002 fueron los productos naturales o derivados de productos naturales Y otro 20% de estas sustancias durante este período de tiempo se consideraron imitadores de productos naturales lo que significa que el compuesto sintético se obtuvo a partir del estudio de los productos naturales (Newman *et al* 2003)

3 Encontrar agentes como herramientas farmacológicas por ejemplo el ácido lisérgico la mescalina y la yohimbina (Fabricant y Farnsworth 2001)

Es importante resaltar que aunque no se obtenga el principio activo la planta la poblacion suele utilizar la planta o parte de ella como remedios caseros (medicina tradicional) así por ejemplo el arandano la equinacea la matricaria el ajo la ginkgo biloba la hierba de San Juan la palma enana americana las cuales presentan actividad biologica comprobada (Fabricant y Farnsworth 2001)

### **III IMPORTANCIA Y CARACTERISTICAS GENERALES DE LA FAMILIA FABACEAE**

La familia Fabaceae poseen una distribucion universal ya que abarca aproximadamente 730 generos y 19400 especies representando así la tercera familia de mayor riqueza natural despues de Asteraceae y Orchidaceae con respecto a las especies mas importantes en el mundo (Molares *et al* 2012) La familia Fabaceae se clasifica a su vez en tres subfamilias a saber Papilionoideae Caesalpinioideae y Mimosoideae Desde el punto de vista botánico cada sub familia es identificada por sus flores y sus frutos (Molares *et al* 2012)

En Panama la familia Fabaceae esta representada por 108 generos 442 especies distribuidas en tres sub familias como se indica a continuacion

1 La sub familia Caesalpinioideae posee 23 generos y 94 especies siendo mayoritarios los generos Bauhinia (10) Casia (10) Caesalpinia (5) Macrolobium (5) Senna (32) y Chamaecrista (9) (Correa *et al* 2004)

2 La sub familia Mimosoidae esta representada con 20 generos y 110



especies en la Flora de Panama siendo los generos Inga (92) Pithecellobium (26) Albizia (9) Calliandra (15) Acacia (19) Mimosa (22) Neptunia (5) y Zygia (6) los mas abundantes (Correa *et al* 2004)

3 La sub familia Papilionoideae posee 64 generos y 238 especies en la Flora Panamena Los generos mas representativos lo constituyen Aeschynomene (9) Canavalia (11) Centrosema (10) Clitoria (8) Crotalaria (12) Dalbergia (8) Desmodium (27) Dioclea (9) Erythrina (10) Indigofera (5) Lonchocarpus (25) Machaerium (27) Ormosia (7) Rhynchosia (8) y Vigna (13) (Correa *et al* 2004)

De la gran diversidad morfologica y quimica derivan las principales propiedades de uso de las diferentes plantas de esta familia su gran relevancia en la alimentacion tanto humana como animal ya que representan una importante fuente de proteinas De este ultimo aspecto cabe senalar que el valor nutricional de la Fabaceas se relaciona con su gran capacidad para fijar nitrogeno atmosferico lo que resulta util en la sintesis de proteinas Prueba de su importancia en la alimentacion humana es el hecho de que junto con los cereales son las primeras plantas que han sido domesticadas (Molares *et al* 2012)

Para la familia Fabaceae se reportan diferentes usos Etnobotanicos importantes para diferentes generos estudiados Es asi como en diversos lugares del mundo utilizan estas plantas para tratar la malaria la amenorrea la ictericia las infecciones de diferente tipo la fiebre la inflamacion el dolor de

diversos tipos en el cancer (Eldeen *et al* 2010 Havinga *et al* 2009 Meng *et al* 2009 Togola *et al* 2008)

Basados en dichos usos algunos autores han investigado la actividad farmacologica para esta familia de plantas dentro de los cuales se reportan actividad antileishmaniasica anticancer inmunomodulador antiasmatico anininflamatorio antihipertensivo relajante del musculo liso antiulceroso antipiretico cardioprotector antidiabetico antiamnesico antioxidante antiviral hepatoprotector para tratar afecciones neurologicas y dermatologicas (Lima *et al* 2012 Rastogi *et al* 2011 Mohagheghzadeh *et al* 2006 Meng *et al* 2009)

De la misma manera otros autores han descrito actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas G (+) y Gram negativas G ( ) ademas de presentar efecto inhibidor contra la enzima acetilcolinesterasa (Eldeen *et al* 2010)

Sin embargo cabe destacar que adicional a las propiedades de uso antes descritas las Fabaceas tambien son fuentes de recursos maderables y es asi como algunas poblaciones emplean las resinas de estas plantas como colorantes e insecticidas (Molares *et al* 2012)

Este precepto es el que marca la directriz para muchos investigadores que trabajan en la busqueda de nuevos compuestos bioactivos que puedan ser empleados para tratar o paliar patologias que afectan al ser humano

#### IV. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DESCRITAS PARA LAS FABACEAS INCLUIDAS EN EL ESTUDIO

##### A. *Albizia adinocephala*

Reino: *Plantae*  
División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Familia: *Fabaceae*  
Género: *Albizia*  
Especie: *adinocephala*  
Parte: Corteza



Fig. 1. Fotografía de *Albizia adinocephala*. Tomada por Carmen Galdames, Herbario de la Universidad de Panamá.

<http://herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/galeria/family/Fabaceae-Mimosoideae?page=2>

*Albizia adinocephala* es un árbol grande, de copa tipo sombrilla, poco densa, de follaje claro y abierto, muy hermoso, de corteza lisa, con manchas blanco-grisáceas, sus flores son blancas y fragantes, produce frutos secos tipo vaina plana, con forma oblonga y elíptica. Comúnmente se le conoce como gabilancillo, gabilán, gabilana, chaperno blanco, candelillo, gallinazo (México). Esta planta se encuentra ampliamente distribuida en África, América Central, América del Sur. En Centroamérica se distribuye en las zonas del Atlántico y Pacífico, desde Belice hasta Panamá.

En Africa varias especies de *Albizia* se utilizan en la medicina popular para el tratamiento de reumatismo problemas de estómago tos diarrea heridas y como antihelmintico (Watt y Breyer Brandwijk 1962 En Ghaly 2010) En la medicina china tradicional los miembros *Albizia* se utilizan para el tratamiento del insomnio la irritabilidad en el tratamiento de heridas como antiseptico como antidisenterico y antituberculoso (Chadha 1985 En Ghaly 2010)

Otros usos que tiene esta planta es que se usa como sombra para plantaciones de cafe potreros lena y postes de cercas (Rojas y Torres 2009)

Cabe mencionar que para el genero *Albizia* existen varios estudios que hablan de la evaluacion antimicrobiana por lo tanto en el cuadro II se resume dicha informacion

Estudios fitoquimicos realizados en las plantas del genero *Albizia* han revelado ser fuentes de diferentes grupos de productos naturales como saponinas triterpenoides diterpenoides lignanos y piridinoglicosidos (Ghaly et al 2010)

En cuanto al aislamiento de moleculas bioactivas presentes en otras especies de *Albizia* encontramos que estudios de las raices de la planta *A gummifera* condujeron al aislamiento de tres nuevas saponinas triterpenoides citotoxicos contra la linea A2780 celula humana de cancer de ovario (Cao et al 2007) De la misma manera saponinas bioactivas se aislaron en *A subdimidiata* con citotoxicidad significativa contra la linea celular A2780 (Abdel et al 2001) Igualmente en *A schimpenana* se aislo un nuevo alcaloide macrociclico tipo espermina y tres analogos conocidos los cuales se evaluaron tambien para la

**Cuadro II.** REPORTES DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DEL GENERO *Albizia*

Plantas del género <i>Albizia</i>	Uso tradicional reportado	Actividad antimicrobiana evaluada	Compuestos bioactivos reportados	Referencia bibliográfica
<i>A. adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose Record extracto metanólico (corteza del tallo y hojas)		Antiparasitaria ( <i>P. falciparum</i> )	Aislamiento de dos nuevas macrocíclicos alcaloides tipo espermina, sustancia capaz de inhibir plasmepsina II.	Ovenden et al., 2002.
<i>A. Chinensis</i> extracto metanólico (hojas)	En la medicina China tradicional se utilizan para el tratamiento de insomnio, irritabilidad, heridas y como antidisentérico, antiséptico y antituberculoso	Antibacteriana Antimicótica	Flavonoides Kaemferol-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido, quercetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosido, luteolina, kaemferol y quercetina	Ghaly et al., 2010.
<i>A. anthelmintica</i>	Por los gaderos nómadas de Kenia, como antihelmíntico en ovejas	Antiparasitaria (nematodos)		Gathuma et al., 2004.
<i>A. inundata</i> .	Para el tratamiento de heridas	Antifúngica		Barboza et al., 2009.
<i>A. lebbeck</i> (Benth.) extracto metanólico acuoso (semillas) Extracto metanólico semillas y frutos	Uso en el tratamiento temprano de la diarrea y la disentería. Como astringente, para la diarrea, la disentería, la gonorrea, infecciones de encías y en la ceguera nocturna	Antibacteriana  Antiparasitaria ( <i>T. cruzi</i> )		Besra et al., 2002.  Al-Musayeib et al., 2012
<i>A. schimperiana</i> Oliv extracto metanólico acuoso y en extracto diclorometanol	En las tierras altas de Kenia se utiliza para el tratamiento de infecciones bacterianas y parasitarias, en particular la neumonía y la malaria	Antifúngica ( <i>C. neoformans</i> ) Antibacteriana Antiparasitaria ( <i>Plasmodium falciparum</i> )	Un nuevo alcaloide macrocíclico tipo espermina y tres análogos conocidos	Samoylenko et al., 2009

Plantas del género <i>Albizia</i>	Uso tradicional reportado	Actividad antimicrobiana evaluada	Compuestos bioactivos reportados	Referencia bibliográfica
<i>A. adianthifolia</i> extracto de acetato de etilo, fracciones y compuestos aislados de la corteza del tallo	En África central y occidental se usa para el tratamiento de enfermedades de la piel, bronquitis, inflamación de los ojos, dolores de cabeza, la solitaria y sinusitis. La maceración de la corteza del tallo y raíz se usa como un antídoto contra el veneno o se aplica en pomada en los ojos inflamados; la decocción de la corteza del tallo es bebido en la tratamiento de dolores abdominales, fiebre tifoidea e infecciones de vías urinarias y respiratorias.	Antibacteriana  Antimicótica	Triterpenos, saponinas y flavonoides	Tamokou <i>et al.</i> , 2012
<i>Albizia myriophylla</i> (madera)	En Tailandia fórmulas a base de hierbas para la caries.	Antibacteriana	Tres flavonoides lupinifolina, 8-metoxi-7, 3', 4'-trihidroxi-flavona, y 7,8,3', 4'-tetrahidroxi-flavone, triterpenoide lupeol así como cuatro esteroides sitosterono $\beta$ -, estigmasta-5,22-dien-3-ona, $\beta$ -sitosterol, y el estigmasterol	Joycharat <i>et al.</i> , 2013



actividad citotóxica contra líneas de células cancerosas humanas y fibroblastos de riñón de mamífero (Samoylenko *et al.*, 2009). También dos isoflavonoides se encontraron en la raíz de *A. odoratissima* (Rao *et al.*, 2003). Así mismo se ha caracterizado saponinas y triterpenos en *A. myriophylla* (Yoshikawa *et al.*, 2002). En cuanto a la actividad antioxidante estudios en *A. julibrissin* (follaje) se ha identificado flavonoides glicósidos con interesante acción antioxidante (Lau *et al.*, 2007). Así también en *A. adianthifolia* recientemente se le ha evaluado importante actividad antioxidantes (Tamokou *et al.*, 2012). *A. myriophylla* (Cha Em tailandés) extracto etanólico ha mostrado tener la mayor actividad antioxidante en el ensayo de DPPH (Steinrut *et al.*, 2011). Actividad que va acorde con la identificación de triterpenos saponinas, albiziasaponinas identificada en esta especie del género *Albizia* (Yoshikawa *et al.*, 2002)

### B. *Dalbergia brownei*

Reino: *Plantae*  
División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Familia: *Fabaceae*  
Género: *Dalbergia*  
Especie: *brownei*  
Parte: Hoja



Fig. 2. Fotografía de *Dalbergia brownei*.  
Tomada por Reinaldo Aguilar, Instituto  
Los Charcos de Osa.  
[http://www.flickr.com/photos/plantaspinun\\_sulaosa/6606531977/](http://www.flickr.com/photos/plantaspinun_sulaosa/6606531977/)

En cuanto a su porte *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz puede ser arbusto arbol pequeno o liana de pequena y mediana estatura es nativa de regiones tropicales de America Central y Suramerica Africa Madagascar y el sur de Asia Para esta planta se ha reportado usos para tratar la diarrea y como astringente en donde se le ha identificado compuestos bioactivos tipo alcaloide o glicosido (Coe et al 1996b)

Para *D brownii* se reportan estudios que han demostrado que ayuda disminuir la perdida de suelo por erosion fluvial en un periodo de tiempo (Sepulveda et al 2009)

Otras especies de este genero como lo es *D melanoxylon* ha reportado usos para la tratar la bronquitis la diarrea la sifilis y la amebiasis por los curanderos del noreste de Tanzania Africa (Hedberg et al 1983) Asi tambien se reporta para esta planta una importante actividad antibacteriana y antimicotica bajo las mismas tecnicas usadas en este trabajo de investigacion (Gundidza et al 1993) *D obovata* E Mey ha sido usada tradicionalmente en infusion como antiseptico (Gelfand et al 1985 EN Rabe et al 1997) para el dolor de estomago y dolor de muelas a dicha planta Rabe y col le evaluaron la accion antibacteriana frente a *S aureus* *S epidermis* *B subtilis* *E coli* y *K pneumoniae* mostrando no tener actividad para dichas bacterias (Rabe et al 1997)

En *D candenatensis* se le ha identificado flavonoides que han sido evaluados frente a diferentes bacterias y hongos (Hamburger et al 1987) Otro hallazgo importante son las propiedades analgesicas y antiinflamatorias que



presenta *D. paniculata* y *D. lanceolana* (Ganga et al 2012) (Kale et al 2007) respectivamente

Es importante mencionar que el genero *Dalbergia* es una planta productora de propoleos el cual es un material resinoso y aromático que las abejas elaboran a partir de exudados de diversas plantas los propoleos se han utilizado como antiinflamatorios antiulcerosos antitumorales hepatoprotectores inmunoestimulantes y anestésicos locales de tipo orgánico (Fernandez M 2007) En la actualidad se conoce que los propoleos son una mezcla químicamente compleja que puede estar constituida por mas de ciento cincuenta componentes de manera general en el podemos encontrar ácidos grasos fibras azúcares minerales y aminoácidos además contiene resinas cera de abejas polen aceites esenciales y otros compuestos orgánicos

Se conoce además que los propoleos presentan actividad antifúngica antiviral y antimicrobiana asociada generalmente a la presencia de terpenos y ácidos orgánicos aunque pueden ser propias de algunos flavonoides En este sentido se ha demostrado que algunos compuestos aromáticos ésteres de ácidos grasos y sesquiterpenos aislados de extractos de propoleos turcos tienen actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *S. beta hemolíticos* De tal forma que los extractos de propoleos de diferentes orígenes geográficos han mostrado tener actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *E. coli* antifúngicas contra *C. albicans* y contra el virus de la influenza Aviar

Interesante es el dato que reporta la literatura, la cual informa que los propóleos poseen fuerte actividad antioxidante, relacionada fundamentalmente con la presencia de flavonoides (Fernández, M. 2007).

**C. *Diplotropis purpurea***

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Familia: *Fabaceae*

Género: *Diplotropis*

Especie: *purpurea*

Parte: Tallo

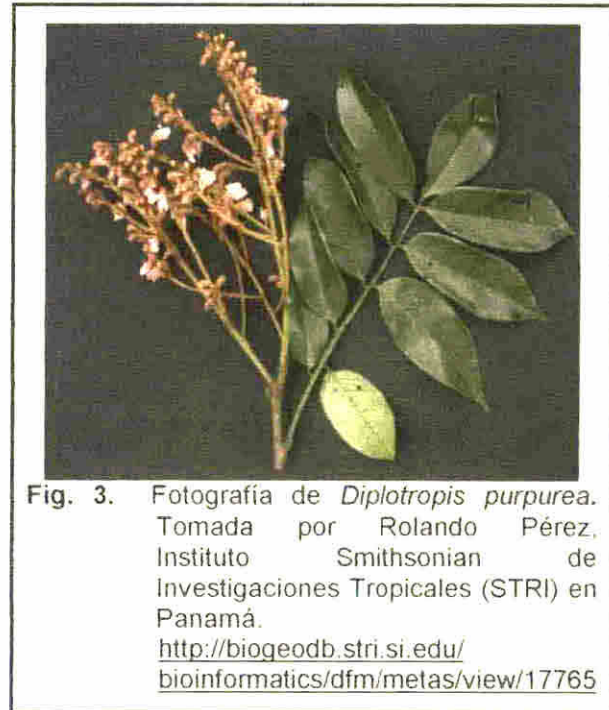


Fig. 3. Fotografía de *Diplotropis purpurea*. Tomada por Rolando Pérez, Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) en Panamá.  
<http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/dfm/metals/view/17765>

*Diplotropis purpurea* es un árbol maderable que crece por lo general 27 a 30 m de altura y de 41 a 61 cm de diámetro, en ocasiones hasta 102 cm, el tronco es generalmente recto, cilíndrico, y claro a longitudes de 18 a 21 m. La madera es generalmente marrón chocolate, la cual se usa para trabajos de construcción pesada, construcción de barcos, pisos, componentes para muebles, tornería, ferrocarril y mangos de herramientas (Torres-Colín *et al.*, 2010). Comúnmente en el Brasil se le conoce como botonallare, peonia, tatabu, aramatta, zwarte kabbes, sucupira. Se distribuye tierras altas de las Guayanas y Amazonas en Brasil. Por ser un árbol de madera dura se han realizado

interesantes estudios en países como Bolivia en donde fueron evaluados por el desgaste de rendimiento, tasa de erosión, estabilidad dimensional, deformación, la comprobación de la superficie, y la división del suelo (Williams *et al.*, 2001).

Múltiples estudios se han realizado en especies de este mismo género como lo es en *D. ferruginea* Benth planta a la cual se le ha identificado importante actividad farmacológica, de tipo espasmolítica, en sus moléculas bioactivas de naturaleza flavonoide llamados furanoflavan (Limaa *et al.*, 2005). Además de encontrar alcaloides quinolizidínicos y otros flavonoides (Wojciechowski *et al.*, 2004). En otros estudios con esta misma planta reportan actividad inhibitoria frente a *E. coli* y *P. aeruginosa* (Cerqueira, 2011). Para esta misma planta se ha evaluado actividad antioxidante (Pereira *et al.*, 2007).

#### **D. *Machaerium* sp.**

Reino: *Plantae*  
División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Familia: *Fabaceae*  
Género: *Machaerium*  
Especie: *sp.*  
Parte: Tallo



**Fig. 4.** Fotografía de *Machaerium* sp.  
<http://www.ciens.ucv.ve/arboretum/frutos.html>

Dentro del género *Machaerium* se incluyen especies que se clasifican de acuerdo a las características del tallo que pueden ser: lianas, arbustos y árboles. Su distribución va desde México hasta Argentina, este tipo de plantas crecen

desde el nivel del mar de 500 a 900 m. En Latinoamérica algunas de estas especies han sido empleados como agentes medicinales para el tratamiento de la diarrea y otras han sido evaluadas contra diversos microorganismos patógenos, además de que diferentes especies de *Machaerium* se han utilizado para el tratamiento de la impotencia sexual (Díaz *et al.*, 2011).

En Panamá *Machaerium sp.* es utilizada por los curanderos de la comarca indígena Ngäbe-Buglé de Bocas del Toro y Chiriquí, en decocción oral para tratar la tos y las aftas de la boca. (Joly *et al.*, 1987).

En cuanto a la actividad antimicrobiana de las diferentes especies de *Machaerium*, en la bibliografía revisada encontramos que existen evidencias de varios estudios previos llevados a cabo sobre este género de plantas, las cuales se describen en el cuadro III.

**Cuadro III.** REPORTE DE ESTUDIOS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA REALIZADOS A DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Machaerium*

Plantas del género <i>Machaerium</i>	Actividad antimicrobiana que presenta	Referencia bibliográfica
<i>M. floribundum</i> (hojas) extracto etanólico Tallos leñosos y la corteza	Antibacteriana	Díaz <i>et al.</i> , 2011
<i>M. opacum</i> (hojas) extracto dicloro metano	Antibacteriana	De Almeida <i>et al.</i> , 2000
<i>M. multiflorum</i>	Antibacteriana Antimalárica	Muhammad <i>et al.</i> , 2001
<i>M. aristulatum</i>	Antigiardiásica	Sohly, <i>et al.</i> , 1999

Por otro lado para este genero tambien se han reportado efectos analgesicos (Khalid *et al* 2010) es asi como *M hirtum vell* mostro actividad analgesica y antiinflamatoria de los compuestos puros aislados a partir de la planta (Ignoato *et al* 2012)

En cuanto a la identificacion de moleculas bioactivas presentes en *Machaerium* para *M anstulatum* se describe el aislamiento de diversos isoflavonoides ademas de identificarse compuestos citotoxicos tipo fenol (Seo *et al* 2001) Asi mismo de importancia es la identificacion de los nuevos neoflavonoides encontrados en *M kuhlmannii* y *M nictitans* (Ollis *et al* 1968)

En cuanto a su actividad antioxidante en *M villosum* del Brasil ha sido estudiada para identificar las propiedades antioxidantes que presenta la planta mediante resonancia paramagnetica electronica y el metodo del radical 2 2 difenil 1 picrihidracil (DPPH) (Santos A 2006) Para este punto de interes son los estudios realizados por Diaz y colaboradores en donde ademas de los estudios antimicrobianos realizados en *M floribundum* evaluan la actividad antioxidante sobre los fibroblastos en el proceso inflamatorio del acné (Diaz *et al* 2011)



**E. *Macroptilium lathyroides***

Reino: *Plantae*  
División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Familia: *Fabaceae*  
Género: *Macroptilium*  
Especie: *lathyroides*  
Parte: Raíz



**Fig. 5.** Fotografía de *Macroptilium lathyroides*  
<http://www.starrenvironmental.com/images/image/?q=090926-6774&o=plants>

*Macroptilium lathyroides* (L.) Urban es una planta erecta de unos 70 cm de altura, su tronco es bastante desojado, mientras en lo alto desarrollan muchas ramificaciones, sus flores son de purpura, con frutos en legumbres.

El género *Macroptilium* está representado por 18 especies, distribuidas en los trópicos y los subtrópicos del continente americano, desde el sur de los Estados Unidos, hasta el norte de la República de Argentina y de Uruguay, (Torres *et al.*, 2010). Con esto podemos decir que es estrictamente americano, *Macroptilium* constituye un ejemplo adicional de la distribución geográfica mostrada por numerosos taxones neotropicales que se trasladaron al norte de América al Sur y dominaron tierras bajas Centroamericanas después de que fuera establecida la conexión de tierra a través del Istmo de Panamá (Espert y Burghardt, 2010).

Comunmente en America se le conoce como frijoles desfasados frijol silvestre habichuela parada frijolito de los arrozales frijol de monte frijol de los arrozales haba de guisante silvestre Se usa como ornamental pero si no se presta cuidado puede convertirse en maleza Crece en lugares humedos a lo largo de bordes de caminos en terrenos baldios en campos abiertos pastizales Es asi como a *M atropurpureum* se le considera como una leguminosa de forraje importante recomendado por los estados africanos ya que reduce al minimo la erosion del suelo y mejora del suelo nutrientes como nitrogeno fosforo potasio aluminio y manganeso (Chittamuri *et al* 2012) Ademias de fijar el nitrogeno de manera muy eficaz por lo tanto se puede utilizar como abono verde o cultivo de cobertura en rotaciones del terreno (Espert y Burghardt 2010)

Dentro de los usos *M lathyroides* ha reportado se utilizada como antipiretico (Beyra y Reyes 2005) Otras especies del mismo genero como lo es *M bracteatum* se les ha utilizado en medicina tradicional y encontrado importantes propiedades antihemorragicas despues del parto (Filipoy *et al* 1994) Ademias de constituir una importante fuente de lectinas de aplicación en hematologia (Toms 1981 En Beyra y Reyes 2005) Asi tambien estudios previos han demostrado actividad antipiretica para genero *Macroptilium* (Loustalot *et al* 1949)

En cuanto a la composicion quimica de este genero un estudio realizado en veinte especies sudamericanas entre ellos nueve especies de *Macroptilium* *M fraternum* *M psammodes* *M prostratum* *M panduratum* *M*

*longepedunculatum* *M. bracteatum* *M. erythroloma* y *M. lathyroidess* y *M. paraguayensis* se les pudo identificar y cuantificar los flavonoides que contienen (Zallocchi *et al* 1994)

Un analisis fitoquimico de todas las partes (hojas flores y frutos) de *M. bracteatum* mostraron la presencia de importantes compuestos bioactivos como fenoles flavonoides terpenoides hidratos de carbono proteinas saponinas indoles y glicosidos (Chittamuri *et al* 2012) El analisis cualitativo de los fenoles flavonoides y antocianidinas en todas las partes revelo la presencia de veintidos compuestos fenolicos con dos compuestos no identificados en cada parte junto con cuatro flavonoides y un compuesto de antocianidina en las flores

En cuanto a la actividad antibacteriana que presenta *M. bracteatum* se pudo demostrar un importante efecto contra los cuatro agentes patogenos bacterianos seleccionados (Chittamuri *et al* 2012)

Siratro y colaboradores realizaron estudios en las hojas de *M. bracteatum* *M. lathyroidess* *M. uniflorum* en los cuales encontraron la presencia de mioinositol compuesto con potencial para el tratamiento de los desordenes del panico (Morris B 2003)

Interesante es el estudio realizado por Kearns y colaboradores en donde *M. atropurpureum* presentado actividad tipo alternativa oxidasa enzima involucrada a la resistencia a la respiracion de la planta al cianuro (Kearns *et al* 1992) Ademias de presentar actividad anticolinesterasa (Yamamoto *et al* 2008)

En cuanto la actividad antioxidante en el momento de la revision bibliografica esta planta no presenta estudios relacionados con este efecto



**F. *Ormosia coccinea***

Reino: *Plantae*  
División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Familia: *Fabaceae*  
Género: *Ormosia*  
Especie: *coccinea*  
Parte: Raquis de infructescencia



Fig. 6. Fotografía de *Ormosia coccinea*  
<http://delicadesa.com/?p=519>

*Ormosia coccinea*, se desarrolla como un árbol grande, de hasta 30 m de altura, en zonas boscosas, con un tronco cilíndrico vertical, de hasta 9 m de diámetro. A lo largo del tronco se presentan anillos horizontales. Las flores son purpúreas, haladas y cerradas como se presentan en las legumbres. El fruto es venenoso si se ingiere, es una pequeña legumbre o vaina aplanada, punteada en un extremo y de color verde y rojo-anaranjado. En el interior se encuentran una pulpa dulce de una a dos semillas que son negras en una mitad y rojas en la otra. Comúnmente en África se le conoce como huayruro. En Sudamérica era ya utilizada desde épocas antiguas para la fabricación de adornos y joyas. En muchos vestigios incas, se han encontrado numerosas semillas de huayruro formando parte de objetos como collares y brazaletes, además este árbol tiene uso maderable. En Panamá *Ormosia coccínea* solamente tiene uso artesanal en donde sus semillas por su llamativo color rojo con negro se utilizan para hacer collares, aretes, pulseras y cortinas (Carrasquilla, 2006).

Reportes de diferentes estudios en especies diferentes de este género como lo son: Estudios de las concentraciones de nutrientes nitrógeno, fosforo y potasio presentes en las hojas en *O. pinnata* mostraron ser más altos que los de otras especies de árboles estudiados (Xue *et al.*, 2003).

Diferentes estudios del género *Ormosia* se han llevado a cabo, entre los que destacan la evaluación de la actividad antimicrobiana así por ejemplo *O. monosperma* presentó actividad contra *Streptococcus mutans*, *Prophyromonas gingivalis* y *Actinomyces actinomycetemcomitans* (Linuma *et al.*, 1994).

Para el género *Ormosia* existen una variedad de estudios que reportan la identificación de biomoléculas, que podrían estar relacionadas con la importante acción antimicrobiana que presentan, al respecto en el cuadro IV aparecen los resultados de dichos estudios.

**Cuadro IV.** DESCRIPCIÓN DE ESTUDIOS REALIZADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Ormosia*

Especies del género <i>Ormosia</i>	Resultados del estudio	Comentario	Referencia bibliográfica
<i>O. coccinea</i> hojas	Ormosinine, Ormosamine, Panamine		Lloyd <i>et al.</i> , 1958b
<i>O. panamensis</i> Benth	Alcaloides, panamine ormosine, ormosinine	Sólo estudiaron la obtención e alcaloides	Lloyd <i>et al.</i> , 1958a
<i>O. stipitata</i> Schery	N-metileitisine	Las hojas de la planta fueron recolectas en Chiriquí Panamá	Lloyd <i>et al.</i> , 1958b
<i>O. panamensis</i> Benth semillas	Oxypanamine alcaloide policíclico Panamine un alcaloide	Realizaron evaluaciones farmacológicas para Oxypamine	Moran <i>et al.</i> , 1959

Especies del género <i>Ormosia</i>	Resultados del estudio	Comentario	Referencia bibliográfica
<i>O. dasycarpa</i> Jacks extracción etanólica	Alcaloides dasicarpine, ormosine, ormosinine y panamine	Para las dos referencias sólo estudiaron la obtención de alcaloides	Clarke <i>et al.</i> , 1960 Clarke <i>et al.</i> , 1963
<i>O. jamaicensis</i> (Urb)	Alcaloides Jamaisensine ormosine, ormosinine y panamine	Obtención de alcaloides	Lloyd <i>et al.</i> , 1960 Hassal <i>et al.</i> , 1964
<i>O. semicastrata</i>	Alcaloides (--) -ormosanine, (+) -piptantine, (--) -18-epiormosanine, and (--) -ormocastrine		McClean <i>et al.</i> , 1972
<i>O. monosperma</i> corteza de la raíz	10 isoflavonoides incluyendo dos nuevos compuestos 7,4'-dihidroxi-6'', 6''-dimethylpyrano-(2'', 3'': 5,6) -8 - (3-metil-1, 3 -butadienil) isoflavona, llamada ormosidin, y dalbergion 4'-O-beta-D-glucopiranósido.	Estas estructuras se confirmaron por análisis espectroscópico.	Linuma <i>et al.</i> , 1994
<i>O. wayana</i> corteza del tallo	(-) -3 $\beta$ -hidroxi-13 $\alpha$ -tigloyloxy-lupanina		Olivier <i>et al.</i> , 2001
<i>O. sumatrana</i> hojas extracto de cloroformo-soluble	Aislamiento de un nuevo tipo A-derivado de proantocianidina, 3'-O-cinnamoylprocyanidin A-2 (1), y un cerebrosido nuevo, sumatranósido		Su <i>et al.</i> , 2004
<i>O. henryi</i>	Isoflavonoides llamados <i>ormosinol</i> y un glucósido isoflavonoide denominado <i>ormosinoside</i>	Los compuestos aislados presentan una interesante actividad antioxidante.	Feng <i>et al.</i> , 2012

## V CAMPO DE ESTUDIO DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Las plantas con propiedades medicinales juegan un papel importante para el ser humano ya que son un campo de estudio muy amplio y con gran potencial terapeutico siendo utilizadas por esta razon cada dia con mayor frecuencia para mantener y restaurar la salud

En los ultimos dias las tecnicas utilizadas en la investigacion en el area de la salud avanzan a pasos agigantados de tal suerte que desde la secuenciacion del genoma humano miles de nuevas dianas moleculares han sido identificadas como importantes en diversas enfermedades (Kramer y Cohen 2004 En Balunas 2005) Y asi tenemos que con la llegada de ensayos de cribado se pretende alcanzar estos objetivos

No obstante los compuestos conocidos a partir de plantas medicinales pueden mostrar un papel prometedor y posiblemente presentar actividad selectiva De tal forma que varios compuestos conocidos tradicionalmente aislados a partir de plantas medicinales han demostrado actuar sobre dianas moleculares nuevas las cuales han sido validadas recientemente como ejemplo de este campo de estudio tenemos a la indirubina que inhibe selectivamente quinasas ciclindpendiente (Hoessel *et al* 1999 y Eisenbrand *et al* 2004 En Balunas 2005) asi mismo kamebakaurin ha demostrado inhibir la NF  $\kappa$ B (Hwang *et al* 2001y Lee *et al* 2002 En Balunas 2005) Otros compuestos conocidos tambien han demostrado actuar en nuevas dianas moleculares para revivir el interes en los miembros de dichos compuesto de la

planta frecuentemente aislado en esta línea encontramos a la cucurbitacina I obtenido en el Instituto Nacional del Cáncer (NCI). Además, a otros compuestos ya conocidos se les ha encontrado que son altamente selectivos en la inhibición de la vía de JAK/STAT3 en los tumores con activado STAT3 (Blaskovich *et al* 2003. En Balunas 2005). De la misma manera la hlapachona ha reportado matar selectivamente a las células cancerosas respecto a las células normales a través de la activación directa en el control durante el ciclo celular (Li *et al* 2003) y el ácido betulínico con citotoxicidad selectiva en el melanoma a través de la activación de p38 (Pisha *et al* 1995. Tan *et al* 2003 y Cichewicz y Kouzi 2004. En Balunas 2005).



## ANTECEDENTES

### I EVALUACIÓN ETNOBOTANICA A TRAVES DEL TAMIZADO ANTIMICROBIANO

La Etnobotanica como disciplina del conocimiento científico se basa en la relacion interactiva del ser humano con las plantas adquiriendo saberes que va acumulando en el transcurso del tiempo sin dejar de considerar su relacion con el medio ambiente Por lo expresado anteriormente podemos considerar que mucho antes de que la humanidad descubriera la existencia de microbios la idea de que habia ciertas plantas curativas potenciales fue bien acogida

Desde la antigüedad el hombre ha utilizado las plantas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas y algunas de estas medicinas tradicionales todavia se incluyen como parte del tratamiento habitual de diversas enfermedades así por ejemplo el uso de la gayuba (*Arctostaphylos uvaursi*) el jugo de arandano (*Vaccinium macrocarpon*) para el tratamiento de infecciones del tracto urinario presentados en diferentes manuales de fitoterapia mientras que especies como el toronjil (*Melissa officinalis*) ajo (*Allium sativum*) y arbol de te (*Melaleuca alternifolia*) se describen como agentes antimicrobianos de amplio espectro su base en aceites esenciales de estas plantas en lugar de sus extractos han tenido el mayor uso en el tratamiento de las enfermedades infecciosas en el sistema respiratorio tracto urinario sistemas gastrointestinal y

biliar así como en la piel. En el caso de la *Melaleuca alternifolia* por ejemplo, el uso del aceite esencial (aceite de árbol de te) es una herramienta común terapéutica para tratar problemas de acné y otras infecciones de la piel (Rios et al. 2005).

Por todo lo explicado anteriormente se llega a la conclusión de que el hombre desde sus inicios aprendió a identificar las plantas que presentaban actividad antimicrobiana para curar diversas infecciones a las cuales se enfrentaba de tal manera que realizaba empíricamente un tamizado antimicrobiano.

En la actualidad un número importante de los antibióticos introducidos en el mercado en los últimos años son de origen natural o derivados semisintéticos (Suffredini et al. 2004). Así, en las últimas décadas de noventa y tres nuevos agentes antibacterianos sometidos a análisis por la FDA, seis fueron de procedencia natural (teicoplanina, mupirocina, miokamicina, carumonam, isepamicina y RV 11) y otros cuarenta y cinco fueron productos semisintéticos. En el caso particular de los antivirales, siete compuestos, aunque modificados en el laboratorio, proceden de productos naturales (Cragg et al. 1997).

## **II TERAPIA ANTIMICROBIANA HISTORIA ACTUALIDAD Y PERSPECTIVAS**

El tratamiento de las enfermedades mediante compuestos químicos no es nuevo, al considerar que los antimicrobianos constituyen uno de los hitos más

trascendentales no solo de la historia de la medicina sino tambien de la historia de la humanidad al reducir las cifras de mortalidad con su introducción en la clinica a principios de la decada de 1940 (Gonzalez *et al* 2005)

Historicamente los registros de Hipocrates (IV siglos a C ) y Galeno (II siglos d C ) ya daban indicios de la terapeutica antimicrobiana La obra escrita por Pedanio Dioscorides Anazarbeo (I siglo d C ) en la antigua Grecia puede considerarse como punto de partida de la farmacologia ya que en ella se describen alrededor de 600 plantas aproximadamente y un centenar de minerales entre los que se han podido identificar diversas sustancias con propiedades antimicrobianas (Gonzalez *et al* 2005) En 1495 ya se utilizaban sales de mercurio para tratar la sifilis (Mateos 2010) Por otro lado el empleo de agentes farmacologicos en el tratamiento de infecciones comienza cuando los chinos hace mas de 2 500 anos utilizaron la cascara enmohecida de la soja en el tratamiento de carbuncos forunculos e infecciones similares Fue hasta el ano 1877 que Pasteur y Joubert reconocen las potencialidades clinicas de los microorganismos como agentes terapeuticos Mas tarde los experimentos de Ehrlich en la primera decada del siglo XX condujeron al descubrimiento de las arsfenaminas primer triunfo importante de la quimioterapia planeada para esos anos Entonces en 1934 inicia la era moderna de la terapeutica antimicrobiana con la descripcion de Dogmak de la efectividad de la primera sulfonamida obtenida de un colorante rojo llamado Prontosil util en el tratamiento de las infecciones por *estreptococos* De la misma manera la llamada Edad de Oro de



los antibioticos comienza en 1941 con la produccion de la penicilina a gran escala y su utilizacion con buenos resultados en ensayos clinicos

Actualmente se conocen mas de 5 000 antimicrobianos de los cuales solo unos 100 se utilizan en la practica clinica (Mateos 2010) Sabiendo que para que un antimicrobiano sea efectivo no solo debe de matar o inhibir al microorganismo causante de la infeccion sino que ademas debe ser relativamente inocuo para las celulas humanas al exhibir toxicidad selectiva (Martinez *et al* 2007) Con todo esto podemos decir que el desarrollo de la antibioticoterapia en la actualidad permite un eficaz tratamiento de infecciones bacterianas agudas y algunas enfermedades cronicas como la tuberculosis pues los nuevos antibioticos resultan alentadores para el control de enfermedades virales e infecciones parasitarias y micoticas (Cordies *et al* 1998)

El uso de los agentes antimicrobianos en la terapeutica de las enfermedades infecciosas ha constituido un acontecimiento sin precedentes porque la curacion y control de las infecciones permitio modificar favorablemente el panorama de la morbilidad y mortalidad del adulto en el que estas afecciones ocupan el primer lugar entre las causas de muerte Es importante considerar el desarrollo alcanzado por la microbiologia en nuestros dias lo cual ha permitido identificar otros tipos de microorganismos e infecciones por lo que se hace necesario el uso de nuevos farmacos para su tratamiento (Cordies *et al* 1998)

En la actualidad se calcula que aproximadamente el 40 % de todos los pacientes hospitalizados reciben tratamiento con antimicrobianos, por lo que en la últimas décadas se han obtenido numerosos compuestos de esta índole, los que resultan de utilidad incuestionable; sin embargo, su amplio uso fomenta el aumento de la resistencia de los gérmenes, lo que crea una necesidad cada vez mayor de nuevas drogas, y se encarece el tratamiento. En este sentido, conocer los criterios farmacológicos y microbiológicos, permite el manejo adecuado y racional de estos compuestos (Cordiés *et al.*, 1998).

A sí mismo, considerando el conocimiento actual sobre los mecanismos de duplicación de la bacteria y sobre los mecanismos de resistencia que presentan estos microorganismos a los diferentes grupos de antimicrobianos, se esperara que se obtengas nuevas moléculas modelos a partir de diversas fuentes naturales, de las cuales se obtenga en el laboratorio nuevos antimicrobianos que sean sustancias puramente sintéticas con gran especificidad por un sitio de acción previamente elegido y con una adecuada inmunidad a la inactivación por los mecanismos de resistencia antimicrobiana. (Seija *et al* 2008).

### **III. EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA A TRAVÉS DEL SCREENING HIPOCRÁTICO**

Para la realización de la evaluación de la actividad farmacológica de los extractos utilizando el modelo del Screening Hipocrático, el cual es un diseño experimental, fundamental para los estudios preclínicos. Este método consiste

en la búsqueda de una o varias acciones biológicas presentes en un compuesto determinado el ensayo puede ser específico si se trata de una acción farmacológica determinada o general como es el caso de nuestro estudio ya que se buscan múltiples actividades biológicas que pudieran estar presentes en el extracto a evaluar

Esta técnica no solo es una de las técnicas más usadas en la evaluación de la actividad farmacológica sino que también permite realizar evaluaciones de tipo toxicológico de la sustancia a ensayar al observarse porcentaje de supervivencia en los animales tratados a las dosis ensayadas

#### **IV TERAPIA ANTIOXIDANTE CONCEPTOS IMPORTANCIA Y ACTUALIDAD**

En los sistemas vivos los radicales libres (RL) se generan como parte del proceso metabólico normal del cuerpo. Las reacciones de estos RL normalmente se producen principalmente en la cadena respiratoria mitocondrial en oxidasas hepáticas de función mixta por leucocitos producto de un efecto bacteriano a través de la actividad de la xantina oxidasa por los contaminantes atmosféricos por catalizadores de metales de transición por drogas y xenobióticos. Además la movilización química de las reservas de grasa en diversas condiciones tales como la lactancia el ejercicio la fiebre la infección y el ayuno incluso puede resultar en una mayor actividad de RL y daños en particular a los sistemas inmunitario y nervioso mientras que las hormonas del estrés como son

adrenalina y la noradrenalina secretadas por las glándulas suprarrenales bajo condiciones de estrés emocional continuo y excesivo se metabolizan en compuestos que en algún momento se pueden convertir en RL (Atawodi 2005)

Mientras que en estados fisiopatológicos se genera un desequilibrio en la homeostasis pro-oxidante/antioxidante que conduce a la generación de un exceso de RL implicados en la causa de la carcinogénesis enfermedades inflamatorias enfermedades infecciosas cardiovasculares y neurológicas en el hombre y los animales (Bizimenyera *et al* 2007)

Los RL son especies químicas atómicas o moleculares con un electrón desapareado en su orbital más externo. Este tipo de configuración electrónica hace que sea muy inestable y altamente reactivo (Castaneda *et al* 2008)

Los radicales libres en los sistemas biológicos incluyen las especies reactivas de oxígeno (ERO) como el radical superóxido ( $O_2^-$ ) el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el oxígeno singulete ( $^1O_2$ ) hidropéroxilo ( $HO_2$ ) (García *et al* 2001 En Preza *et al* 2010 Murillo *et al* 2007) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) como el radical óxido nítrico (NO) peroxinitrito (ONOO) (Preza *et al* 2010)

En condiciones normales el organismo cuenta con mecanismos de defensa antioxidante (AOX) para protegerse de los diversos ataques oxidativos los cuales se pueden clasificar en función de su origen en sistemas antioxidantes endógenos y sistemas antioxidantes exógenos que se adquieren a través de la dieta (Bizimenyera *et al* 2007) Estos mecanismos incluyen modos de actuación

tanto directos al interaccionar con las especies reactivas, como indirectos al controlar la producción endógena de ERO, reparación de moléculas dañadas y defensa física de las dianas biológicas como las membranas.

Por lo anterior describimos lo siguiente:

1. Los AOX endógenos, son sintetizados por las células, los cuales pueden ser de tipo enzimático y no enzimático. Los enzimáticos constituyen la primera línea de defensa antioxidante y previenen el daño oxidativo interaccionando directamente con los ERO. Ellas actúan como catalizadores, por lo que sólo se necesita pequeñas cantidades para que ejerzan su protección y son reciclados eficientemente después de su acción, como se observa en el cuadro V.

**Cuadro V. TIPO, FUNCIÓN Y COFACTORES DE LOS ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS.**

Endógenos Enzimáticos	Función	Cofactores
Superóxido dismutasa (SOD)	Protección contra el anión superóxido.	Cobre, sodio, manganeso.
Catalasa (CAT)	Presenta dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa, forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno, eliminación de didroperóxido	Hierro.
Glutación peroxidasa (GPx)	Cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno a lipoperóxido	Selenio.
Glutación reductasa	Cataliza la reducción NADPH dependiente del glutatión disulfuro oxidado, hacia glutatión reducido (GSH).	

Por su parte el sistema antioxidante no enzimático constituye la segunda línea de defensa y está formado básicamente por antioxidantes de bajo peso molecular que forman un numeroso conjunto de compuestos capaces de prevenir el daño oxidativo por interacción directa o indirecta con los ERO, como se observa en el cuadro VI.

Las sustancias con actividad antioxidante al interaccionar con los RL, le ceden un electrón, oxidándose y transformándolos en un RL no toxico. Cabe mencionar que no todos los AOX actúan de esta misma manera, los llamados AOX enzimático catalizan o aceleran reacciones químicas, que reaccionan con los radicales libres (Mayor, 2012).

**Cuadro VI. TIPO Y FUNCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS**

Endógenos No enzimáticos	Función
Glutación	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q	Capta radicales libres
Bilirrubina y ácido úrico	Impiden reacciones tipo Fenton. El ácido úrico también es eficiente protegiendo contra el $O_3$ , el $NO\cdot$ y RNS
Histidina	Eliminan ROS por secuestro directo de radicales $\cdot OH$ , $ROO\cdot$ , $RO\cdot$ , uniéndose al $H_2O_2$ , eliminando $O_2^{\cdot -}$ o uniendo metales de transición
Melatonina	Atrapa una gran variedad de ROS además de estimular la síntesis de importantes enzimas antioxidantes
Ácido tióctico	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)

Información tomada de Venereo, 2002.



2. Los AOX exógenos son aquellos que ingresan a través de la cadena alimenticia, en donde los vegetales como las frutas, legumbres y otros, contienen muchas sustancias que tienen la capacidad de atrapar los RL, mejorando nuestra defensa antioxidante. Dentro de este grupo encontramos a los fitoquímicos de la dieta como polifenoles, quinonas, flavonoides, catequinas, cumarinas, terpenoides y moléculas más pequeñas como el ácido ascórbico, el alfa-tocoferol y los beta-carotenos como se observa en el cuadro VII (García *et al.*, 2001, Bizimenyera *et al.*, 2007).

**Cuadro VII. TIPO Y FUNCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES EXÓGENOS**

Exógenos	Función
Proteínas	Aportan aminoácidos como glutamina, cisterna y arginina, constituyentes de las enzimas antioxidantes
Lípidos	Son inhibidores de la producción de radicales libres aumentando la expresión de genes antioxidantes
Minerales	Actúan como cofactores de muchas enzimas que participan en la eliminación de radicales libres
Vitamina E	Neutraliza el oxígeno singlete Captura radicales libres hidroxilo Captura O <sub>2</sub> Neutraliza peróxidos
Vitamina C	Neutraliza el oxígeno singlete Captura radicales libres de hidroxilo Captura O <sub>2</sub> Regenera la forma oxidada de la vitamina E
Betacarotenos	Neutraliza el oxígeno singlete
Flavonoides, Licopenos	Captación de radicales libres

Información tomada de Venereo, 2002.

Cabe mencionar que, los procesos químicos antioxidantes de tipo endógenos por enzimas desintoxicantes son saturables y limitados. Aunado a esto en circunstancias como bajo consumo de antioxidantes, diversas patologías inmunológicas, inflamación, envejecimiento, o por la exposición a factores ambientales (radiación o el humo del tabaco) lleva a la inducción de algunas enzimas como la ciclooxigenasa-2, lipoxigenasa y ácido nítrico sintasa inducible; se generan macromoléculas intermediarias tipo RL que generan daños celulares (Floyd, 1999; Rao y Balachandran, 2000; Nair *et al.*, 2003 En: Bizimenyera *et al.*, 2007). Por esta razón se recomienda el consumo o ingesta de AOX exógenos, para suplir las carencias o facilitar los procesos de detoxificación.

Es importante mencionar que las sustancias con acción AOX ejercen su acción en un determinado microambiente que puede ser a nivel de la membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular, como se observa en el cuadro VIII.

**Cuadro VIII.** SITIO DONDE EJERCEN SU ACCIÓN LAS SUSTANCIAS AOX

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferrinas
DT-deafarasa		Albúminas
GSH		Haptoglobinas
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

Información tomada de Venereo, 2002.



Cuando existe una producción de RL en exceso o cuando las defensas celulares son deficientes se pierde el equilibrio interno dando origen al proceso de estrés oxidativo en donde las biomoléculas de los sistemas vivos son dañadas de manera significativa (Preza *et al* 2010). El daño que ocasiona el estrés oxidativo se realiza a nivel de las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, así como también se generan daños en cascadas de señalización que conducen a la interrupción de la homeostasis iónica y la modificación del aparato genético generando como consecuencia la muerte celular apoptótica y/o necrosis. Debido a las diferentes funciones de los órganos del cuerpo, algunos son más susceptibles al daño por los RL, así por ejemplo el cerebro es en particular muy sensible al estrés oxidativo, posiblemente por su alto contenido de lípidos, alta actividad metabólica aeróbica y baja actividad de catalasa (Bizimenyera *et al* 2007). Basados en esto se ha hipotetizado la génesis de enfermedades degenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, síndrome de Down (Preza *et al* 2010). Por otro lado a nivel periférico, enfermedades de alta prevalencia han sido relacionadas con el daño oxidativo (Atawodi 2005), carcinogénesis, enfermedades infecciosas y afecciones cardiovasculares (Bizimenyera *et al* 2007).

El daño oxidativo parece ser ahora el mecanismo fundamental que ha sido implicado en la etiología de varias enfermedades, entre ellas la diabetes, en donde el aumento de estrés oxidativo ha postulado que las ERO pueden iniciar la peroxidación de los lípidos, que a su vez estimula la glicación de las proteínas.

la inactivación de las enzimas y la alteración en la estructura y función del colágeno y otras membranas desempeñando un papel en la complicación a largo plazo de la diabetes (Sabu y Kuttan 2002, Boynes 1991, Collier et al 1990. En Atawodi 2005)

De manera similar en la carcinogénesis las ERO son responsables de iniciar el proceso de carcinogénesis de múltiples etapas comenzando con daño en el ADN y la acumulación de eventos genéticos en una o pocas líneas celulares que lleva a la aparición celular progresivamente displásica al crecimiento celular desregulado y finalmente al carcinoma (Tsao *et al* 2004. En Atawodi 2005). Es así como ante esta patología son importantes los estudios epidemiológicos en donde indican que la dieta puede estar relacionada con el 50% de todos los cánceres en los seres humanos ya que puede alterar la susceptibilidad de un órgano individual y la respuesta a los procesos neoplásicos. Por lo tanto se ha encontrado que un aumento de la demanda en el consumo de AOX naturales ayuda a disminuir la frecuencia de aparición de esta enfermedad (Preza *et al* 2010).

Recientemente el estudio de los AOX ha tomado importancia ya que desempeñan un papel neuroprotector al prevenir la apoptosis perfilándose como una prometedora elección en el control y progresión de trastornos neurodegenerativos tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica y el accidente cerebrovascular tanto isquémico como el hemorrágico entre otros.

(Bizimenyera *et al* 2007) En tales condiciones la ingesta de compuestos AOX puede ayudar al cuerpo a neutralizar los RL para reducir o eliminar los efectos perjudiciales del estres oxidativo

Se reconoce que en algunas plantas medicinales se encuentran varios compuestos fenolicos con actividad AOX potente En estudios in vitro estos compuestos ha demostrado un potencial antioxidante (Rajurkar y Hande 2011) Por lo que los AOX derivados de plantas se consideran como sustancias prometedoras para controlar las consecuencias del dano oxidativo (Bizimenyera *et al* 2007) ya que podrian desempenar un papel terapeutico importante contra danos causados por especies reactivas (Adedapo *et al* 2008)

#### **A Plantas con acción antioxidante**

La evidencia experimental muestra que las plantas producen una gran cantidad de compuestos con accion AOX eficaz para controlar el estres oxidativo por lo representan una fuente de nuevos compuestos (Scartezzini y Speroni 2000)

La terapia a base de plantas medicinales con AOX tiene potencial para prevenir retrasar o aliviar patologias Es asi como en las ultimas dos decadas un gran numero de evidencia de estudios epidemiologicos y de laboratorio han aislado de algunas plantas compuestos con propiedades antioxidantes generando efectos protectores sobre la carcinogenesis humana (Surh y Fergusson 2003 Park y Pezzuto 2002 Wattenberg 1996

Greenwald 2002 IARC 1996 Fujiki 1999 Tsao *et al* 2004 Kinghorn *et al* 2004 Mehta y Pezzuto 2002 En Atawodi 2005)

Ademas algunas plantas medicinales han demostrado tener efectos quimiopreventivos y/o terapeutico sobre el cancer de mama y cancer de piel Una revision de estudios de control de casos indican que varios tipos de ginseng (*Panax ginseng*) hierba medicinal mas reconocida en el oriente proteger contra los tumores de labio cavidad oral laringe pulmon esofago estomago pancreas ovario colon y recto (Atawodi 2005)

Existen pruebas similares que demuestran las capacidades de tipo quimiopreventivas Etnobotanicas presentes en los componentes de algunos vegetales con los RL en ulceras reduciendo su formación en la diabetes en la memoria y la función cognitiva en la enfermedad de Alzheimer en enfermedades relacionadas con la edad como la disfuncion neurologica en los trastornos cardiovasculares y renales (Atawodi 2005)

Por otro lado se ha acumulado informacion sobre el potencial que tienen algunos componentes de plantas como las frutas para disminuir o prevenir los procesos de oxidacion celular tales como la guanábana uva chirimoya guayaba semilla del maranon carambola platano verde noni ciruela granadilla mango papaya mamey naranja limon maracuya zapote nispero jagua entre otros (Castaneda *et al* 2008)

Las propiedades medicinales de las plantas se atribuyen principalmente a la presencia de flavonoides pero tambien puede estar influenciada por otros

compuestos organicos tales como cumarinas acidos fenólicos y micronutrientes inorganicos por ejemplo Cu Mn Zn (Repetto y Llesuy 2002 En Atawodi 2005) Sin embargo se ha confirmado que las plantas que contienen flavonoides presentan una gran capacidad antioxidante (Adedapo *et al* 2008)

## JUSTIFICACIÓN

La investigación actual sobre las moléculas novedosas y los productos se centra principalmente en las plantas ya que se pueden obtener con mayor facilidad y su selección se hace sobre la base de su uso Etnomedicinal. Panamá, por ser uno de los países que cuenta con una gran biodiversidad, podría representar una fuente para estudios relacionados.

Las infecciones bacterianas están aumentando todos los días, principalmente debido a la aparición de resistencia a los antibióticos convencionales, lo que conduce a una disminución de su eficacia (Ríos *et al.* 2005). Sin dejar de considerar que la mayoría de los antibióticos actuales tienen limitaciones considerables en términos de efectos secundarios, de espectro y de altos costos. Además, de que en los últimos años no se han descubierto nuevas estructuras, solo han sufrido modificaciones a las moléculas ya conocidas. Por lo tanto, existe una continua y urgente necesidad de descubrir nuevos antibióticos compuestos con diversas estructuras químicas y nuevos mecanismos de acción (Rojas *et al.* 2006).

Una forma de evitar la resistencia a antibióticos de especies patógenas es mediante el uso de nuevos compuestos que no se basen en los agentes antimicrobianos sintéticos existentes (Rojas *et al.* 2006).

Grandes organismos como la FDA incentivan la investigación de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana

Historicamente las plantas han proporcionado una buena fuente de agentes anti infecciosos y la búsqueda de plantas con actividad antimicrobiana ha sido muy explotado durante los últimos años (Dickson *et al* 2011)

Enfermedades a nivel periférico de alta prevalencia han sido relacionadas con el daño oxidativo (estrés oxidativo) (Atawodi 2005) carcinogenesis enfermedades infecciosas y afecciones cardiovasculares (Bizimenyera *et al* 2007) Así como enfermedades degenerativas tales como enfermedad de Alzheimer enfermedad de Parkinson esclerosis múltiple síndrome de Down (Preza *et al* 2010)

La terapia a base de plantas medicinales con actividad antioxidante tiene potencial para prevenir retrasar o aliviar dichas patologías

Es así como en las últimas dos décadas un gran número de evidencia de estudios epidemiológicos y de laboratorio han aislado de algunas plantas compuestos con propiedades antioxidantes generando efectos protectores sobre la carcinogenesis humana (Surh y Fergusson 2003 Park y Pezzuto 2002 Wattenberg 1996 Greenwald 2002 IARC 1996 Fujiki 1999 Tsao *et al* 2004 Kinghorn *et al* 2004 Mehta y Pezzuto 2002 En Atawodi 2005)

Se reconoce que en algunas plantas medicinales se encuentran varios compuestos que presentan actividad antioxidante entre ellos los

flavonoides. Por lo que los AOX derivados de plantas se consideran como sustancias prometedoras para controlar las consecuencias del daño oxidativo (Bizimenyera *et al* 2007) ya que podrían desempeñar un papel terapéutico importante contra daños causados por especies reactivas (Adedapo *et al* 2008)

Las infecciones microbianas especialmente debido a *Staphylococcus* *Streptococcus* especies de *Pseudomonas* y la presencia de radicales libres de oxígeno son conocidos impedimentos para la curación de heridas. Cualquier agente capaz de eliminar o reducir el número de microorganismos presentes en una herida así como reducir el nivel de especies reactivas del oxígeno (ROS) puede facilitar el proceso de curación de la herida. Entonces se hace necesaria la búsqueda de nuevos fármacos antimicrobianos y antioxidantes especialmente las que sería barato y por lo tanto fácilmente accesible por la población pobre (Tamokou *et al* 2012)

Y por último las evaluaciones de las propiedades farmacológicas antimicrobianas y antioxidantes realizadas a las plantas nos ayudan a descubrir su potencial terapéutico que se pudiera aplicar a diferentes áreas de la salud



## OBJETIVOS

### I Generales

- ☐ Evaluar la actividad antimicrobiana de seis extractos metanolicos de las plantas de la familia Fabacea
- ☐ Realizar la evaluacion de la actividad farmacologica y toxicologica de los seis extractos metanolicos de las plantas de la familia Fabacea
- ☐ Realizar la evaluacion de la actividad antioxidante de los seis extractos metanolicos de las plantas de la familia Fabacea

### II Especificos

- ☐ Evaluar la actividad antibacteriana obteniendo las concentraciones inhibitorias minimas (CIM) y la concentraciones bactericidas minimas (CBM) de seis extractos metabolicos seleccionados frente a bacterias tipo salvaje
- ☐ Identificar la actividad antibacteriana de seis extractos metanolicos seleccionados frente a bacterias resistentes
- ☐ Determinar la actividad antimicotica de seis extractos metanolicos seleccionados
- ☐ Evaluar la actividad farmacologica de seis extractos metanolicos seleccionados usando el metodo de Screening Hipocratico

- Identificar los efectos toxicos en los animales al administrar una dosis de 1 000 mg/kg de seis extractos metanolicos seleccionados usando el metodo de Screening Hipocratico
- Identificar la presencia de flavonoides por cromatografia de capa fina (CCF) de seis extractos metanolicos seleccionados
- Identificar la actividad antioxidante de seis extractos metanolicos seleccionados mediante el ensayo autobiografico utilizando DPPH
- Determinar la actividad antioxidante mediante el porcentaje de inhibicion frente a DPPH de seis extractos metanolicos seleccionados con un lector ELISA

## METODOLOGIA

### I Criterios de selección de las plantas incluidas en el estudio

Las plantas objeto de estudio para la evaluación de las tres actividades realizadas fueron preseleccionadas usando tres criterios

- 1 Bioprospección es decir el estudio de la naturaleza que tiene como objetivo la búsqueda sistemática de compuestos químicos biomoléculas microorganismos genes entre otros con potencial para ser utilizados por el hombre
- 2 La existencia de datos bibliográficos sobre la química y la actividad biológica reportada para las plantas
- 3 Los usos etnobotánicos

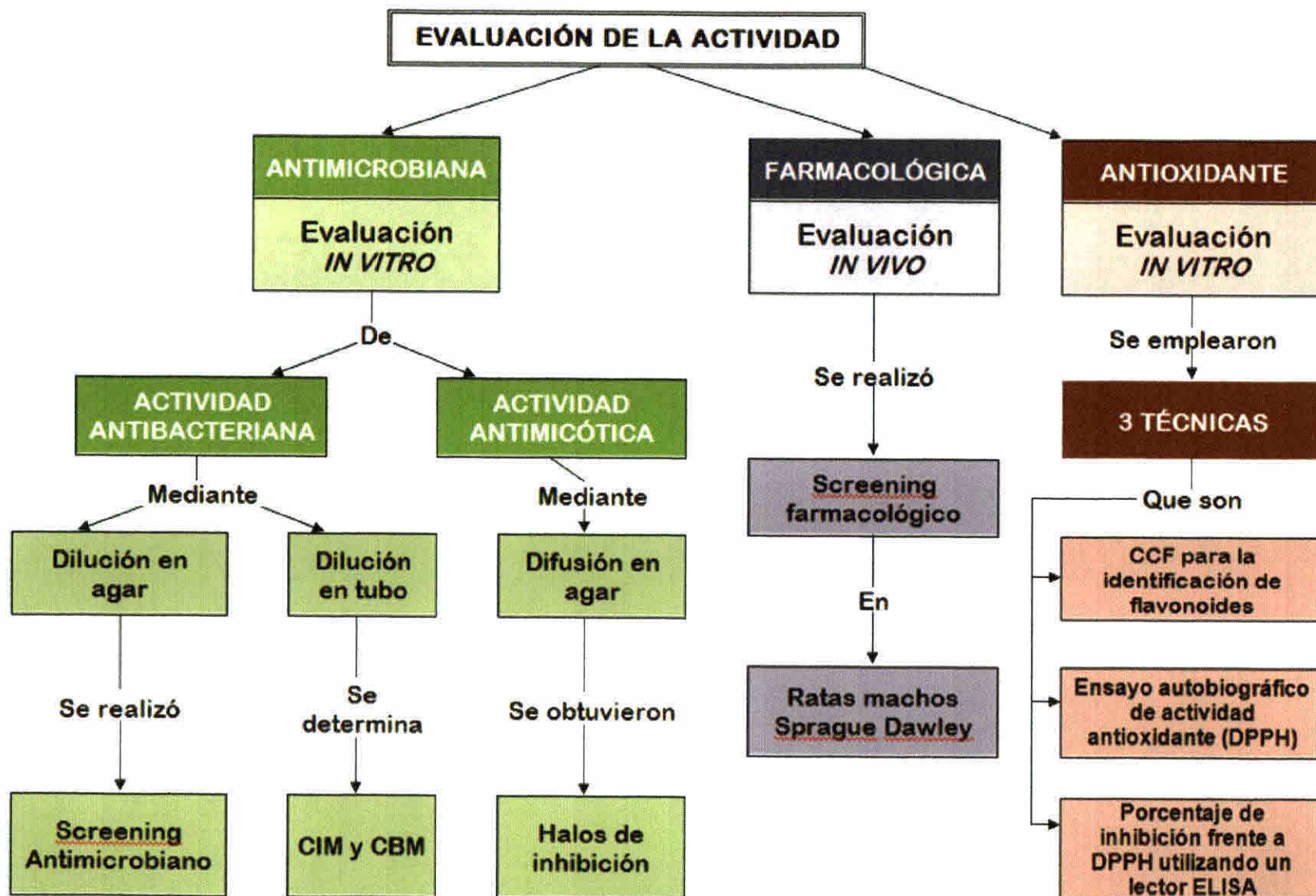
La selección de la parte de la planta a usar se hizo tomando en cuenta los resultados de un estudio preliminar cuyo objetivo fue determinar la capacidad antiproliferativa utilizando modelos celulares (datos no publicados)

Toda vez que fue descrita la capacidad antiproliferativa de los extractos los mismos fueron considerados para realizar nuestro estudio que contempla ampliar las evaluaciones de las propiedades farmacológicas antimicrobianas y antioxidantes de las plantas a fin de describir su potencial terapéutico

### II Esquema General de Trabajo

Para una mejor comprensión del estudio a continuación en la figura 7 describimos el esquema general de trabajo que utilizamos

Fig. 7. Esquema general de trabajo



### III. Recolección e Identificación del material vegetal

Las plantas objeto de este estudio: *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose, *Dalbergia brownie* (Jacq.) Schinz, *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff, *Machaerium* sp., *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban y *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks., fueron recolectadas en diferentes regiones del Istmo Panameño (cuadro IX). La identificación y la clasificación taxonómica estuvieron a cargo de los botánicos Alex Espinosa y Carlos Guerra del Centro de Investigaciones Farmacognósticas de la Flora Panameña (CIFLORPAN), de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de Panamá. Las muestras de cada una de las plantas colectadas reposan en el Herbario de la Universidad de Panamá, de acuerdo a la información resumida en el cuadro IX.

**Cuadro IX.** INFORMACIÓN RELACIONADA CON LA RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS PLANTAS EMPLEADAS.

Nombre científico	Parte de la planta	Nº de voucher	Lugar y fecha de recolección	% de rendimiento
<b><i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. &amp; Rose</b>	Corteza	5 118	Parque Nacional Altos de Campana, Panamá. 24 de abril de 2001.	1,72
<b><i>Dalbergia brownie</i> (Jacq.) Schinz</b>	Hoja	4 668	Parque Nacional Altos de Campana, Panamá. 13 de marzo de 2000.	3,68
<b><i>Diploptropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff</b>	Tallo	7 951	Agua Clara ANAM, Sierra Llorona, Santa Rita, Colón. 19 julio de 2008.	3,16
<b><i>Machaerium</i> sp.</b>	Tallo	7 863	Las Peñitas de San Carlos hacia el Valle de Antón, Coclé. 27 de mayo de 2008.	6,38

Nombre científico	Parte de la planta	No de voucher	Lugar y fecha de colección	% de rendimiento
<b><i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban</b>	Raíz	7 914	Autopista Centenaria hacia Arraiján. Panamá. 12 de julio de 2008.	3,17
<b><i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks.</b>	Raquis de infructes -cencia	2 203	Parque Nacional Coiba, Campamento La Aguja, Veraguas. 4 de septiembre de 1995.	12,48

Información suministrada por el Dr. Dionisio Olmedo (CIFLORPAN).

#### IV. Procesamiento del material vegetal

Una vez recolectadas las plantas, el material vegetal seleccionado se dejó secar al aire libre, siendo posteriormente sometido a un proceso de pulverización empleando un molino con malla de 2 mm (Thomas Wiley, modelo 4).

#### V. Preparación de los extractos

Para la preparación de los extractos se tomaron de 50 a 100 gramos aproximadamente del material vegetal seco y molido, el cual fue macerado con 400 a 600 mL de metanol durante 24 horas. Transcurrido el periodo de maceración, se filtró el material y se llevó a un rotavapor modelo Buchi 430 Suiza, bajo presión reducida y manteniendo el sistema a temperatura inferior a 40 °C. Culminado este paso, se procedió a realizar la liofilización, el envasado, pesado y rotulado de los extractos. El rendimiento obtenido para cada uno de los extractos se expresa en términos de porcentajes como se observa en el cuadro anterior (cuadro IX).



## **VI Determinacion de la actividad antimicrobiana**

Los estudios relacionados con la actividad antimicrobiana de los extractos se realizaron siguiendo los criterios y recomendaciones del Instituto de Estándares Clinicos y del Laboratorio por sus siglas en ingles CLSI (CLSI 2009)

### **A Equipos materiales y reactivos utilizados para la determinación de la actividad antimicrobiana**

Camara de bioseguridad	Frascos esteriles para dilucion
Telstar AM 100	Anfotericina B (50 mg) Richet
Autoclave Autester E	Tigeciclina (50 mg) Whyeth
Asas bacteriologicas	Vancomicina (500 mg) Richet
desechables de 1 y 10 µL	Gentamicina (40 mg) Vitalis
Balanza analitica (Ohaus)	DMSO Sigma
Vortex Heidolph Reax top	Agar nutritivo Biomedicas lote
Densitometro Biomerux	1247
Francia	Agar Sabouraud Biomerieux lote
Platos Petri	842638801
Horno	Agar Mueller Hinton Britania lote
Tubos de ensayo	029
Micropipetas de 20 200 µL	Solucion salina esteril
Puntillas para micropipetas	Agua destilada

## **B Actividad antibacteriana**

### **1 Microorganismos empleados y condiciones de cultivo**

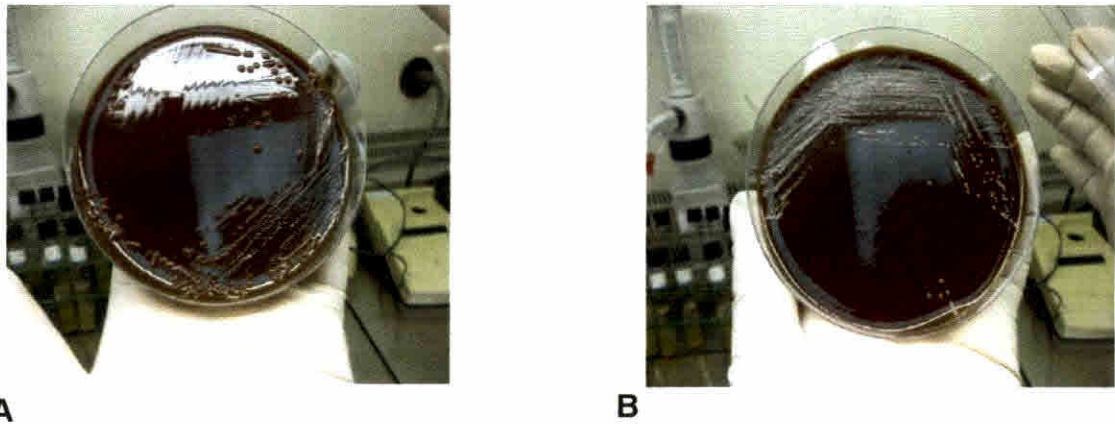
Todos los extractos evaluados se ensayaron frente a diferentes cepas empleando una carga bacteriana estandar de 0.5 McFarland ( $10^8$  UFC/mL). Las cepas empleadas son del American Type Culture Collection (ATCC) y/o proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá. Para el tamizado de la actividad antimicrobiana y para la identificación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) se emplearon cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, a excepción de *Bacillus subtilis* que fue aislada del medio ambiente.

Para aquellos extractos que presentaron marcada actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* fueron evaluados frente a *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA). Por otra parte, los extractos que inhibieron de manera significativa el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* se ensayaron frente a una cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC).

Las cepas de MRSA y KPC (fotografías observadas en la figura 8) fueron obtenidas a partir de muestras clínicas aisladas de pacientes hospitalizados en el Complejo Hospitalario Dr. Arnulfo Arias Madrid (CHAAM) de la ciudad de Panamá e identificadas por el Laboratorio Central de



Referencia se Salud Pública en el año 2011.



**Fig. 8.** Cepas en Platos Petri en agar sangre obtenidas de muestras clínicas aisladas de pacientes hospitalizados en el CHAAM. **A.**KPC. **B.** MRSA.

## **2. Control de calidad aplicado a las cepas bacterianas empleadas**

Para validar la calidad de los ensayos de actividad antimicrobiana fue necesario realizar el control de calidad de las cepas, lo que consistió en inhibir su crecimiento, al colocarlo frente al antimicrobiano de referencia.

Para ello se emplearon fármacos antimicrobianos de acuerdo a la sensibilidad de cada cepa, de tal forma que la gentamicina a 2 µg/mL se empleó como patrón de referencia para inhibir el crecimiento de *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis*. La gentamicina utilizada, a una mayor concentración (4 µg/mL) sirvió como control para *P. aeruginosa*. Adicionalmente, vancomicina (4 µg/mL) se empleó frente a MRSA. Y tigeciclina (8 µg/mL) fue el antimicrobiano de referencia para KPC.

### **3. Preparación de las soluciones para el tamizado de actividad antimicrobiana de los extractos**

Para realizar el tamizado antimicrobiano de los seis extractos incluidos en este estudio, se utilizó la técnica de dilución en plato, empleando agar nutritivo como medio de cultivo. Para esta técnica se prepararon soluciones de cada extracto, a una concentración de 1 000 µg/mL, con un volumen final de 15 mL, los cuales se depositaron en un plato Petri a fin de que solidifiquen como se observa en la figura 9. Una vez solidificados, este quedaba listo para la siembra.



**Fig. 9.** Preparación de los platos Petri conteniendo los extractos metanólicos disueltos en agar nutritivo.

#### 4. *Preparación de la solución bacteriana (0,5 McFarland)*

En un tubo de ensayo, que contenía aproximadamente 0.5 mL de solución salina normal, se le añadió una carga bacteriana, aforando hasta llegar a 0,5 McFarland.

Para asegurar la concentración bacteriana de cada solución, se utilizó un densitómetro marca Biomoreux, Francia (figura 10).

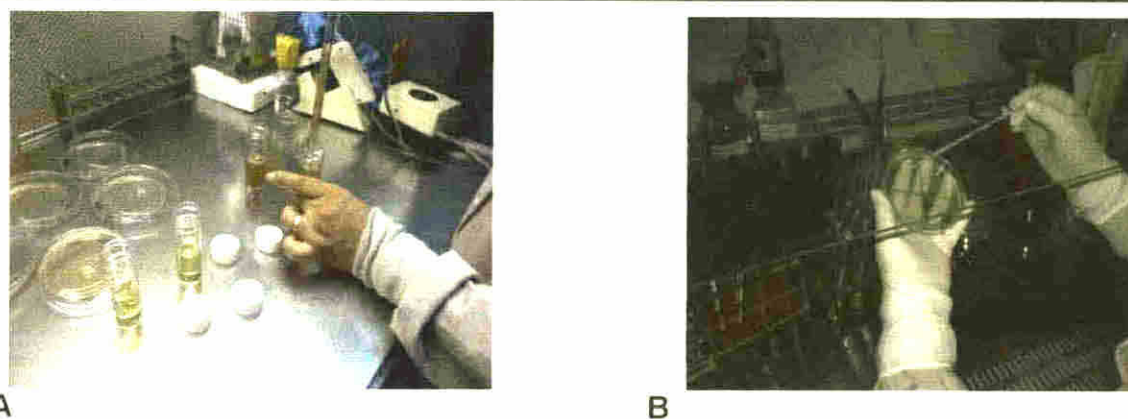


**Fig.10.** Lectura de carga bacteriana a 0,5 McFarland.

#### 5. *Tamizado de la actividad antimicrobiana*

Para el tamizado de la actividad antimicrobiana, una vez preparado el plato Petri que contenía la concentración de cada extracto en agar nutritivo, según se describió anteriormente y como se observa a continuación en la parte A de la figura 11, se sembró 0,5 McFarland de la solución bacteriana, como se evidencia en la parte B de la figura 11 e incubándose a una temperatura entre 35 y 37°C durante 18 a 24 horas.

Es importante mencionar que para la realización de esta técnica fue necesario modificar la técnica con el fin de adaptarla a la medición de la actividad antibacteriana de los extractos vegetales. La modificación consistió en diluir el extracto a evaluar en el agar nutritivo, en el cual se sembró la cepa bacteriana (Murphy *et al.*, 1999., Joray *et al.*, 2011).

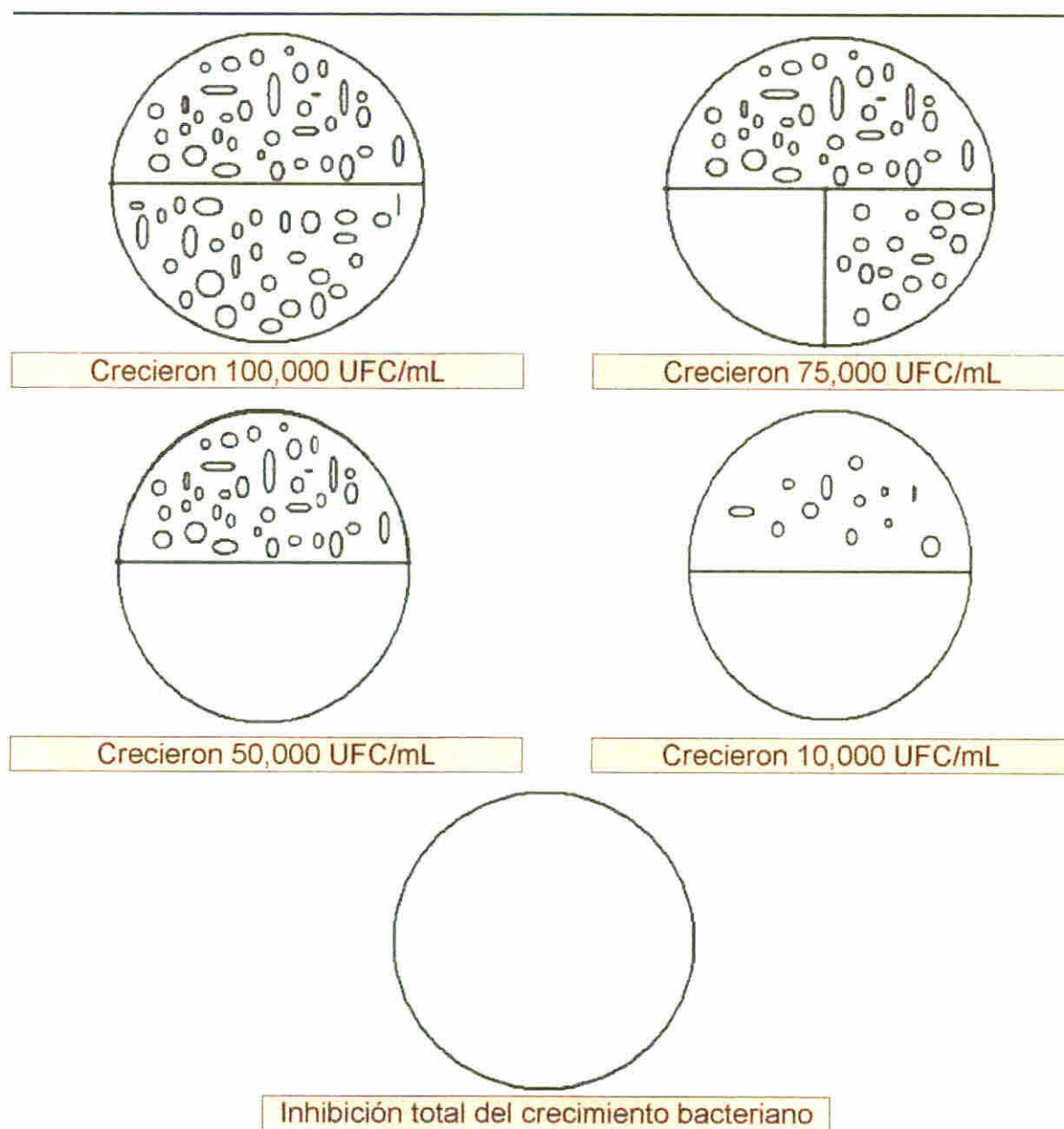


**Fig. 11.** Técnica de tamizado de la actividad antimicrobiana de los extractos. **A.** Preparación de los platos conteniendo los extractos, **B.** Siembra de las cepas a evaluar.

Una vez que transcurrió el tiempo de incubación, se procedió a la realización de la lectura de los platos, observando si había o no crecimiento bacteriano, en el área del plato en donde se realizó la siembra bacteriana. En los casos donde se observó crecimiento bacteriano, se cuantificó la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC), cuando fuera posible.

El conteo del crecimiento bacteriano, se basó en los parámetros recomendados por la Sociedad Americana de Microbiología por sus siglas en inglés (ASM), empleando la escala de medidas descrita en la figura 12.



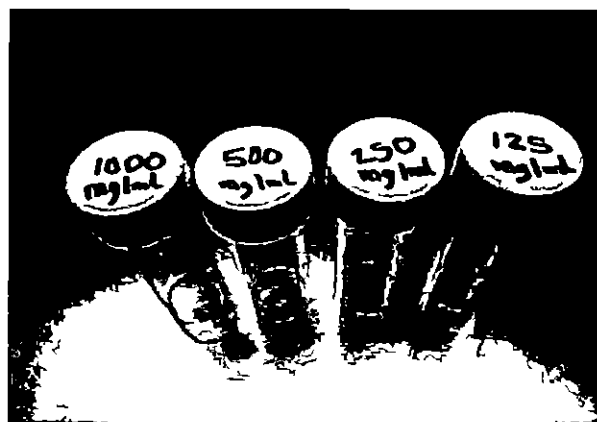


**Fig. 12.** Esquema empleado para el conteo de UFC/mL para el ensayo de tamizado antimicrobiano.

## **6 Identificación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM)**

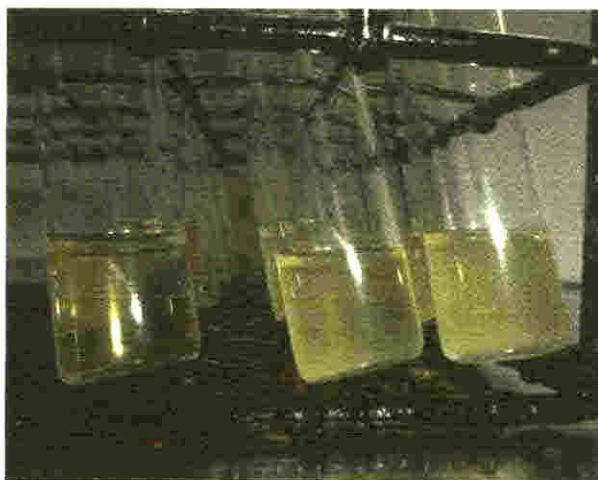
Para los extractos metanolicos que presentaban actividad a la concentracion de 1 000  $\mu\text{g/mL}$  se prepararon soluciones a diferentes concentraciones utilizando el modelo de dilucion antes descrito Para identificar el rango en el que se localizaban la CIM y la CBM frente a cada cepa se inicio con ensayos en los que se emplearon concentraciones seriadas (500 250 y 125  $\text{mg/mL}$ ) de los extractos (figura 13)

Una vez que se identificaron los rangos de concentracion de actividad antimicrobiana de los extractos se trabajo con diluciones que contemplaron los limites de efectividad hasta identificar o aproximarse al valor de CIM y de la CBM Para obtener los valores exactos o aproximados de estas concentraciones para cada extracto se empleo la tecnica de macrodilucion en tubo usando como medio de cultivo caldo Mueller Hinton



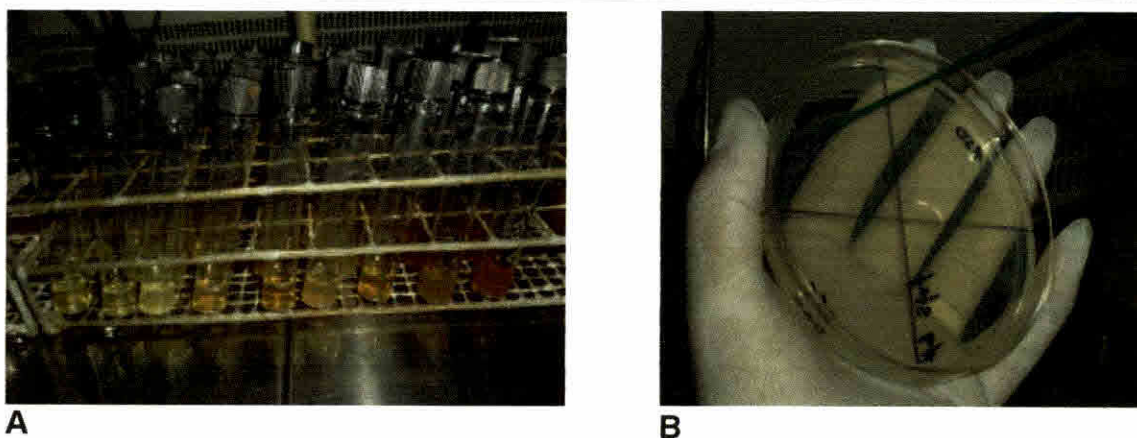
**Fig 13** Diluciones empleadas para la determinacion de la CIM y de la CBM de los extractos

En el método de macrodilución, a cada tubo que contenía la concentración del extracto a evaluar, se le agregó 10  $\mu\text{L}$  de la suspensión bacteriana 0,5 de McFarland. Posteriormente, los tubos se incubaron a una temperatura entre 35 y 37°C durante 18 a 24 horas. Al finalizar el periodo de incubación, la cuantificación de la actividad inhibitoria se realizó a través de la evaluación de la turbidez de los tubos a simple vista, como a continuación se observa en la figura 14.



**Fig. 14.** Determinación del crecimiento bacteriano a través de la técnica de macrodilución en tubo, aplicando el criterio de observación de la turbidez.

En algunos casos, al emplear el criterio de turbidez para determinar el crecimiento bacteriano, la naturaleza de los extractos vegetales interfería con la observación, ya que el propio extracto proporcionaba color y turbidez a las muestras (figura 15A). Por lo tanto para confirmar los resultados obtenidos, se sembró cada una de las muestras en agar nutritivo, en los casos en que fuera requerido, observando y contando el crecimiento de UFC/mL (figura 15B).



**Fig. 15.** **A.** Interferencia de la turbidez y color del extracto en la determinación de la CIM. **B.** Confirmación del valor de la CIM, a través de la técnica de sembrado.

### **C. Evaluación de la actividad antimicótica**

#### **1. Preparación de las cepas de los hongos**

Los seis extractos incluidos en el estudio fueron evaluados con el fin de identificar si presentaban actividad antimicótica frente a levaduras (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*). Frente a hongos filamentosos (*Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* y *Aspergillus niger*).

Cada hongo fue cultivado en tubos de ensayo o placas Petri estériles conteniendo agar Sabouraud fresco.

Cabe mencionar que, los hongos mencionados anteriormente fueron proporcionados por la sección de Micología del departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá.



## **2 Condiciones de crecimiento de los hongos**

Existen circunstancias optimas de crecimiento para cada especie de hongo. La mayoría crecen entre 0 y 55 °C teniendo por lo general un rango de temperatura ideal entre 20 y 30 °C. Los hongos utilizados en este ensayo son oportunistas y patógenos ya que afectan al ser humano. Los cuales se clasifican como mesófilos y termófilos al tener una temperatura de crecimiento entre 35 y 45 °C (Bonifaz *et al* 2008). En base a la temperatura optima de crecimiento para cada hongo, el crecimiento de las levaduras se obtuvo a las 48 hrs, mientras que para los hongos filamentosos se requirió cinco días para su crecimiento.

## **3 Determinación de la actividad antimicótica**

Se evaluó la actividad antifúngica de los seis extractos metanólicos de las plantas frente a 0.2 McFarland para levaduras, 0.5 McFarland para hongos filamentosos utilizando el método McGeachie. La técnica utilizada consistió en sembrar las cepas de cada hongo en platos Petri con agar Sabouraud previamente divididos en cuatro cuadrantes (Paramo *et al* 1998).

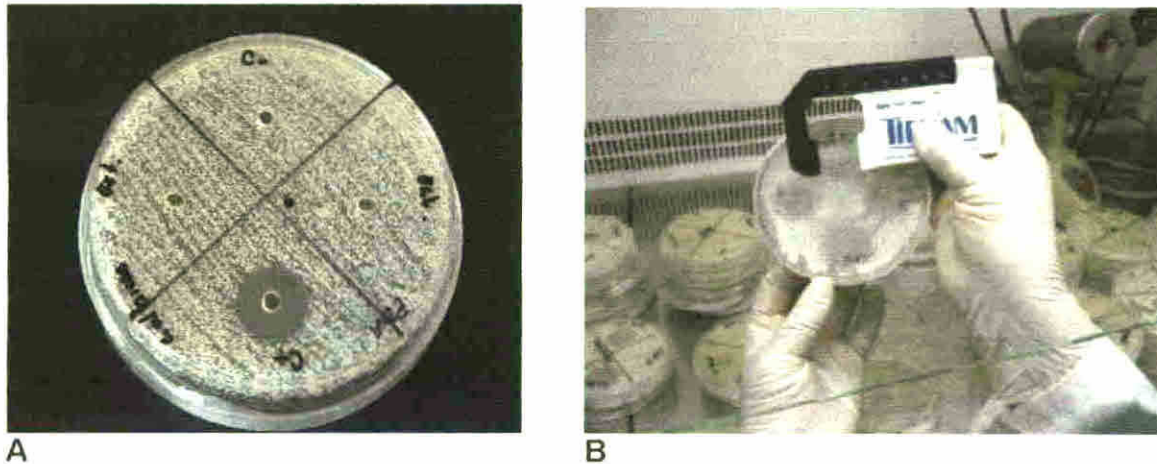
Los extractos se pesaron para obtener una concentración a utilizar de 1 000 µg/mL y el día del ensayo fueron disueltos en dimetilsulfoxido (DMSO) al 25%.

En todo momento durante la realización de esta prueba se mantuvo un cuadrante con un pocillo al cual se les depositó DMSO al 25 % como control.

negativo y otro pocillo al que se le añadió anfotericina B (5 µg/mL), empleado como control positivo. Mientras que en los otros dos pocillos realizados se le añadió el extracto a evaluar como se observa en la figura 16A.

El plato preparado se incubó, según las condiciones requeridas de crecimiento para cada tipo de hongo las cuales fueron ya descritas. Transcurrido el periodo de incubación propio para cada cepa, se realizaron las observaciones alrededor de los pocillos para verificar el crecimiento del agente micótico, así como en el resto del área del plato.

En la figura 16B se aprecia la utilización del vernier con lo que fueron medidos los halos de inhibición. Los mismos fueron expresados en milímetros y son comparados siempre frente al halo generado alrededor de la anfotericina B y con el pocillo creado con DMSO al 25%.



**Fig. 16.** **A.** Demostración de plato Petri donde se observa la ubicación de los controles positivos, negativos y los del extracto para determinar la actividad antimicótica de los extractos, **B.** Medición de los halos de inhibición producto de la actividad antimicótica de los extractos.

## **VII Actividad farmacológica**

### **A Screening Hipocrático**

Para las sustancias que han presentado algun efecto importante como es el caso de nuestras plantas es necesario realizar otra serie de estudios que contemplen varios parametros a evaluar para identificar todas las posibles actividades que pueda presentar la planta en el organismo ademas de identificar si presenta toxicidad a la dosis ensayada

#### **1 Condiciones y requisitos del ensayo**

La realizacion del tamizado farmacologico de los extractos metanolicos descritos para este estudio se llevo a cabo de acuerdo con los criterios establecidos en la Guia para el cuidado y uso de animales de laboratorio publicado por el National Health Institute (NIH Publication N 85 23 1996)

Los ensayos fueron realizados en ratas Sprague Dawley machos con peso de 180 a 200 g provenientes del Bioterio de la Universidad de Panama

Antes del ensayo los animales permanecieron en ayuno de aproximadamente 10 horas con agua al gusto El dia del ensayo los extractos de cada planta fueron disueltos en carboximetilcelulosa (CMC) al 2 %

## **2 Equipos materiales y reactivos utilizados para determinación de la actividad farmacológica**

Corrales	Brocha pequena con cerdas
Jeringuillas de 1cc	cola de caballo
Cronometros	Guantes
Termometro	Papel toalla
Balanza para pesar animal	Papel filtro
Marcadores permanentes	Papel manila
Canula para administracion	Frascos para diluciones
oral en ratas	Carboximetilcelulosa (CMC)
Balanza analitica (Ohaus)	al 2 %

## **3 Procedimiento**

El día del ensayo los animales fueron pesados y marcados para la clasificación en los 7 grupos de estudio con un número de animales igual a tres. Uno de los grupos se mantiene como grupo control y recibe la dosis del agente empleado para suspender los extractos (CMC 2 / 0.1 mL/100 g de peso). El resto de los grupos recibieron dosis de 1000 mg/kg de cada uno de los seis extractos contemplados. Todos los tratamientos se administraron por vía oral. Antes de la administración de los extractos se evaluaron parámetros controles de cada animal siendo este el valor al tiempo cero. Luego de la

administración se realizaron determinaciones de los parámetros a los 15 30 60 y 120 minutos y a las 24 horas

En la realización del Screening Farmacológico generalmente se comienza con una dosis máxima establecida en este caso es de 1000 mg/kg y dependiendo de la respuesta manifestada se puede bajar la dosis se puede utilizar una progresión logarítmica Si se encuentran efectos tóxicos o letales con la dosis inicial se baja la dosis a 500 250 125 mg/kg etc hasta que se presenten respuestas mínimas Si se encuentran efectos tóxicos muy marcados con la dosis de 300 mg/kg mientras que con la dosis de 100 mg/kg no se observan muchos efectos se pueden utilizar dosis intermedias como 250 200 150 mg/kg

#### ***4 Descripción de los parámetros a evaluar en el Screening Farmacológico***

Para una mejor comprensión en el cuadro X se describen detalladamente los parámetros evaluados en el Screening Hipocrático

**Cuadro X. DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁMETROS A EVALUAR EN EL SCREENING FARMACOLÓGICO**

Parámetro	Descripción	Como se mide	Forma de evaluar
Actividad motora	Capacidad de moverse el animal de un lado a otro	Se divide el corral donde está el animal en 4 cuadrantes con dimensiones iguales para todos los cuadrantes dependiendo del tamaño total del corral y se observa cuantos cuadrantes recorre el animal en un tiempo determinado	Se observa cuantos cuadrantes recorre el animal 4/4 = Normal O menos es disminuida= -
Ataxia	Marcha incoordinada del animal	Se observa como camina el animal	A=Ausente P(+) =leve P(++) = moderado P (+++) = severo
Pérdida del reflejo de enderezamiento	Pérdida de la postura normal del animal, se mantiene sobre su dorso sin moverse	Se observa que postura presenta el animal	A = Ausente P = Presente
Analgesia	Pérdida de reflejo doloroso	Se presiona con el dedo pulgar la base de la cola del animal	A = Ausente P = Presente
Anestesia	Pérdida del reflejo de enderezamiento, pérdida del reflejo doloroso	Se observa y se evalúa ante el estímulo doloroso	A = Ausente P = Presente
Conducta Agresiva	Es el comportamiento el animal	Se hace un ruido con las palmas de las manos, y se ve cómo reacciona el animal	A = Ausente P = Presente
Conducta Pasiva	Es el comportamiento el animal	Se hace un ruido con las palmas de las manos, y se ve cómo reacciona el animal	A = Ausente P = Presente
Frecuencia respiratoria	Cantidad de ciclos respiratorios por minuto	Observación y conteo general de como respira	N = normal - = disminuida += aumentada



Parámetro	Descripción	Como se mide	Forma de evaluar
Amplitud Respiración	Se observan como se distienden los músculos intercostales	Observación y conteo general de cómo respira	N = normal - = disminuida += aumentada
Parálisis Pata Anterior	Parálisis de las patas delanteras	Se observa si el animal arrastra las patas delanteras	A = Ausente P = Presente + = una pata ++ = dos patas
Pata Trasera	Parálisis de las patas traseras	Se observa si el animal arrastra las patas traseras	A = Ausente P = Presente + = una pata ++ = dos patas
Temblores Finos	Temblores casi imperceptibles	Se observa al animal si tiembla	A = Ausente P = Presente
Fuertes	Temblores perceptibles	Se observa si hay temblor y si lo hay si son fuertes	A = Ausente P = Presente
Fasciculaciones	Contracción incoordinada de los músculos	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
Catalepsia	Postura anormal del animal	Se pone al animal en una postura anormal o impuesta y se observa si la mantiene o no	A = Ausente P = Presente
Convulsiones Tónicas	Movimientos involuntarios pronunciados de todo el animal con estiramiento de los miembros	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
Clónicas	Convulsiones en forma de bicicleteo	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
Mixtas	Convulsiones tónicas-clónicas	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
Respuesta estereotipada	Movimientos repetitivos anormales del animal	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
Cola de Staub	La cola del animal se pone en posición erecta o en forma de S	Se observa la cola del animal	A = Ausente P = Presente
Piloerección	Contracción del músculo piloerector	Se observa si el animal se eriza	A = Ausente P = Presente

Parámetro	Descripción	Como se mide	Forma de evaluar
Palidez	Pérdida del color de la piel y de las mucosas. Sustancias vasoconstrictoras producen dicho efecto	Se hace un mapa de los vasos presentes en el lóbulo de la oreja del animal antes de la administración luego se compara con el mapa obtenido después de la administración	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Hiperemia	Es un aumento en la irrigación a un órgano o tejido.	La oreja se observa rosada	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Cianosis	Es la coloración azulada de la piel, mucosas y lechos ungueales, usualmente debida a la presencia de concentraciones que son $\leq 5$ g/dL de hemoglobina sin oxígeno en los vasos sanguíneos cerca de la superficie de la piel	Se observa si las mucosas, orejas y patas se ponen morados	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Ptosis palpebral	Caída del párpado	Se observa el párpado del animal	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Efectos Oculares Exosftalmia	Ojos saltones	Se observan los ojos del animal	A = Ausente P = Presente
Enoftalmia	Ojos hundidos	Se observan los ojos del animal	A = Ausente P = Presente
Reflejo corneal	Respuesta ante un estímulo en la córnea	Con un pedacito de cola de caballo se estimula de atrás hacia adelante el ojo y se observa si el animal cierra el ojo	A = Ausente P = Presente
Reflejo pineal	Moviendo el lóbulo de la oreja	Con un pedacito de cola de caballo se estimula el conducto auditivo y se ve como responde	A = Ausente P = Presente



Parámetro	Descripción	Como se mide	Forma de evaluar
Tamaño de la pupila	Es el tamaño de la pupila ya se miosis o midriasis	Con una regla se mide el tamaño de la pupila	Se reporta en milímetros
Nistagmo	Movimiento de los ojos en forma vertical u horizontal	Se observa los ojos del animal	A = Ausente P = Presente
Lacrimación	Presencia de lágrimas	Se mide con papel filtro	Se reporta en milímetros
Cromolacriorrea	Lágrimas con pigmento rojo	Se mide con papel toalla	A = Ausente P = Presente
Salivación	Se mide con papel filtro	Se mide con papel filtro	Se reporta en milímetros
Micción	Capacidad de orinar	Se observa la cantidad de micciones realizadas en el corral	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Defecación	Capacidad de defecar	Se observa la cantidad de defecaciones realizadas en el corral	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Diarrea	Aumento en cantidad y consistencia de las defecaciones	Se observa la cantidad y consistencia de defecaciones realizadas en el corral	A = Ausente P = Presente P(+)=leve P(++)= moderado P (+++) = severo
Actividad prensil Pata anterior	Capacidad que tiene el animal de sujetarse con las patas delanteras a una superficie	Se pone el animal en una rejilla se voltea y se observa si se sujeta o no	A = Ausente P = Presente
Pata trasera	Capacidad que tiene el animal de sujetarse con las patas traseras a una superficie	Se pone el animal en una rejilla se voltea y se observa como se sujeta	A = Ausente P = Presente
Priapismo	Erección del pene	Se observa el pene del animal	A = Ausente P = Presente

Parámetro	Descripción	Como se mide	Forma de evaluar
<b>Signo de Robichaud</b>	Nos indica el grado de deshidratación que hay el organismo	Se toma al animal por la piel (2-3 seg) y se observa si se queda la piel recogida	A = Ausente P = Presente
<b>Temerosidad</b>	Temor al medio que lo rodea	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
<b>Temperatura rectal</b>	Es la temperatura corporal que presenta el animal	Se introduce un termómetro en el conducto anal (1min)	Se reporta el número de la temperatura en centígrados
<b>Contorsiones abdominales</b>	Contracciones abdominales, seguidas de torsión del tronco y extensión de los miembros posteriores	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente
<b>Vocalización</b>	Realización de ruidos vocales del animal	Se escucha si el animal hace o no algún ruido	A = Ausente P = Presente
<b>Muerte</b>	Cese de todas las funciones vitales del animal	Se observa al animal	A = Ausente P = Presente

### 5. Medición de los parámetros incluidos dentro del Screening Farmacológico

En la sección de anexos aparece el formato del cuadro que nos indica cómo se reportaron los resultados del Screening Hipocrático para cada extracto evaluado, el cual se hace en base a los parámetros descritos en el cuadro X.

Los parámetros del Screening Farmacológico fueron evaluados en base a los criterios considerados en el cuadro siguiente.

**Cuadro XI. CRITERIO PARA LA EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS UTILIZADOS EN EL SCREENING FARMACOLÓGICO**

Evaluación cualitativa	Grado de respuesta
Normal	N
Ausente	A
Menor o disminuida	-
Presente	+
Apreciable	++
Máxima	+++

#### **VIII. Actividad Antioxidante**

La actividad antioxidante de los extractos de las plantas *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose, *Dalbergia brownie* (Jacq.) Schinz, *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff, *Machaerium sp.*, *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban y *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks., se evaluaron por medio de tres técnicas:

- Cromatografía de Capa Fina preliminar para la identificación de flavonoides
- Ensayo Autobiográfico de actividad antioxidante utilizando DPPH
- Porcentaje de inhibición frente a DPPH por un método en microplato de 96 pocillos utilizando un lector ELISA.

**A Equipos materiales y reactivos utilizados para la actividad antioxidante**

Placas de Cromatografias	Microplacas de 96 pocillos
o Placas de Aluminio de Silica Gel Fase Reversa RP 18F <sub>254s</sub> (MERCK)	NUNC/Thermo Scientific Cat 269620
o Placas de Aluminio de Silica Gel 60 F <sub>254</sub> (MERCK)	Puntillas con capacidad de 100 µL
	Puntillas con capacidad de 200 µL
	Puntillas con capacidad de 1000 µL
Micropipetas de 100 µL	Balanza analitica (Ohaus)
Micropipetas 20 200 µL	2 2 Difenil 1 picnildrazil (DPPH) Sigma Aldrich
▪ Micropipetas 1000 µL	D9132
Micropipetas desechables de 1 5 µL codigo blanco BLAUBRAND ®	Metanol MERCK para analisis 107018
Camara de fluorescencia a 365 nm	Dihidrato de Quercetina Sigma Aldrich Q0125
Lector de ELISA Biotek ® ELx800 Absorbance	Acido Clorogenico Sigma Aldrich C3878
Microplate Reader	Hidrato de Rutina Sigma Aldrich R2303

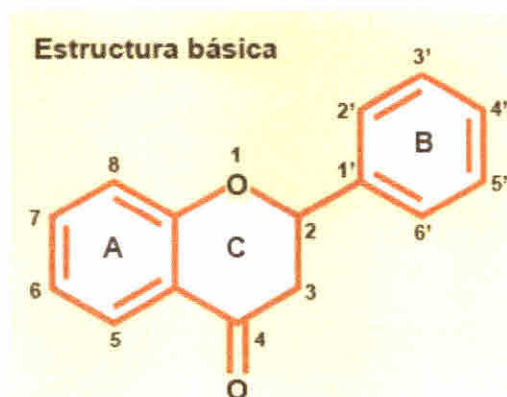
Reactivo	Natural	Product	Acetato de Etilo
(NP)	Difenilboriloxietilamina		Acido Formico
(1% Metanolico)			Acido Acetico
Polietilenglicol-4000(PEG)			
(5% Etanolico)			

## **B Cromatografía de capa fina preliminar (CCF) para la identificación de flavonoides**

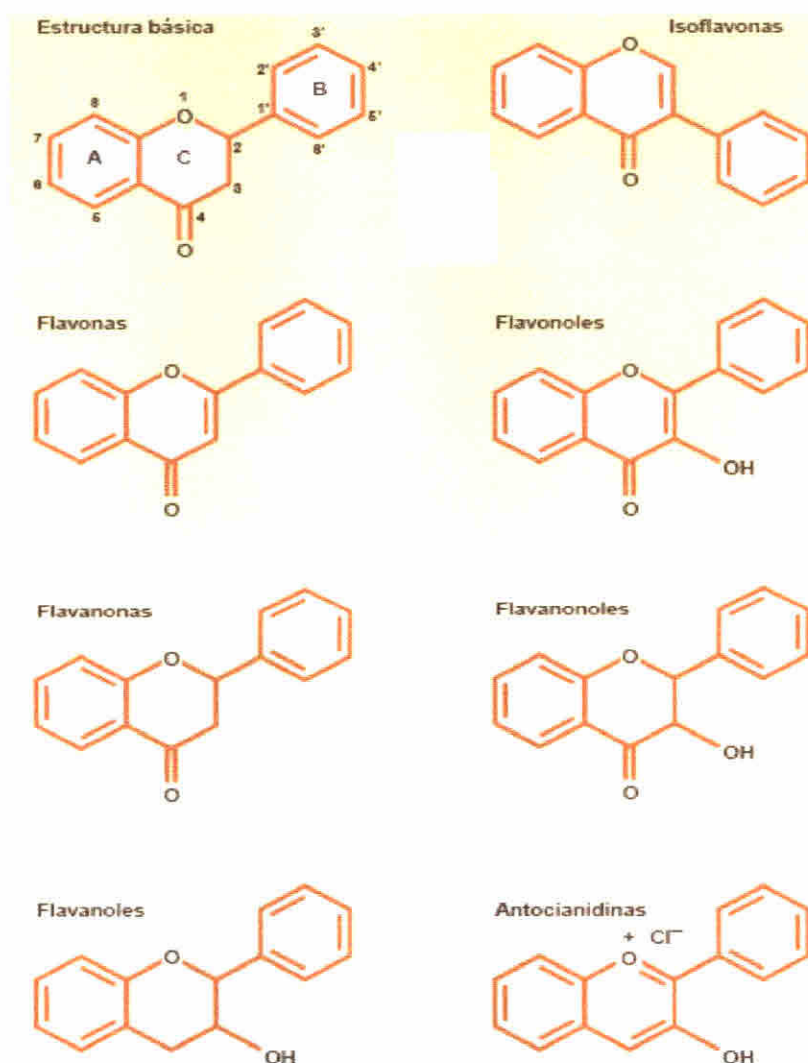
Actualmente los flavonoides presentes en las plantas han mostrado una excelente actividad antioxidante por lo cual se evaluo la posibilidad de la presencia de los mismos en las muestras de los extractos metanolicos Para esto se realizo la tecnica de cromatografia de capa fina

Los flavonoides son compuestos naturales de bajo peso molecular como se puede observar en la figura 17 con una estructura quimica basica que consiste en un esqueleto carbonado C6 C3 C6 donde los componentes C6 son anillos aromaticos unidos por tres atomos de carbono que pueden formar o no un tercer anillo pirano o pirona (anillos A C)

Las distintas clases de flavonoides se diferencian en la concentracion de saturacion y en los sustituyentes del anillo C (figura 18) mientras que los compuestos individuales dentro de cada uno de estos grupos se distinguen por la diferente sustitucion de los anillos A y B De esta forma se han identificado hasta 4 000 compuestos diferentes (Alvarez *et al* 2003)



**Fig. 17.** Fenil-benzo-γ-pirona (o fenil-γ-cromona), estructura química de los flavonoides.



**Fig. 18.** Distintas subfamilias de flavonoides (Álvarez *et al.*, 2003).

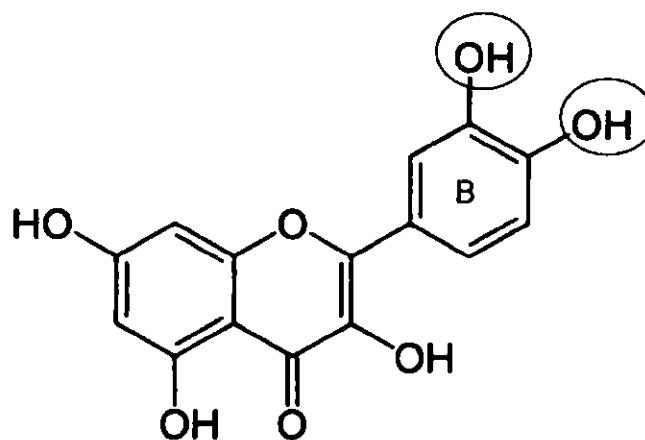


## **1 Fundamento de la técnica**

Este metodo se basa en la emision de una intensa fluorescencia de los compuestos flavonoides a una luz UV de 365 nm Que dependiendo de la estructura quimica de los flavonoides presentes en el extracto las manchas obtenidas en el cromatograma muestran diferentes colores como amarillo naranja verde o azul oscuro que se intensifican y pueden cambiar por el uso de diversos reactivos de pulverizacion Cabe mencionar que los diversos tipos de estructuras de flavonoides difieren en el grado de oxidacion del anillo C y en el patron de sustitucion en el anillo A y / o el anillo B La mayoria de estos compuestos estan presentes en los extractos como mono o diglicosidos Dando origen a diversos colores en presencia del revelador

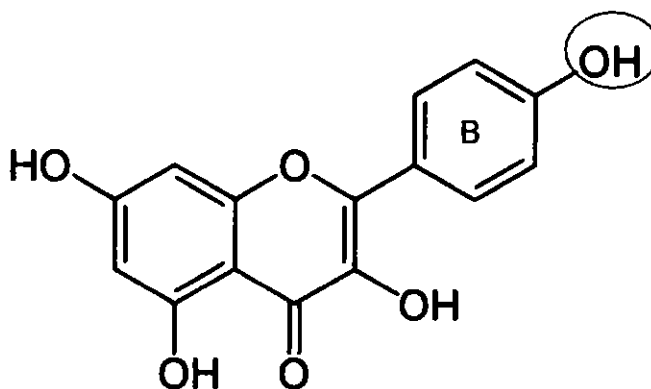
En nuestro caso el tratamiento con los reactivos NP / PEG originan fluorescencias predominantes de colores naranja amarillo verdoso para flavonas y flavonoles y el color verde oscuro para el tipo flavanona Es importante conocer que los extractos que contienen flavonoides pueden contener acidos carboxilicos fenolicos (acido cafeico acido clorogenico) y cumarinas (escopolotin) que con frecuencia aparecen como intensas zonas de color azul claro A una longitud de onda de 365 nm la presencia en el cronograma de fluorescencias naranja o amarillo verdoso despues del tratamiento con NP / PEG se relacionan con el modelo de sustitucion especifica en el anillo B dos grupos hidroxilo adyacentes en el anillo B (por

ejemplo la quercetina) como se observa en la figura 19 dan lugar a la fluorescencia de color naranja



**Fig 19** Estructura química de quercetina

Mientras que en la figura 20 se observa que un solo grupo hidroxilo en el anillo B da lugar al kaempferol el cual presenta una fluorescencia de color amarillo verdoso



**Fig 20** Estructura química de kaempferol

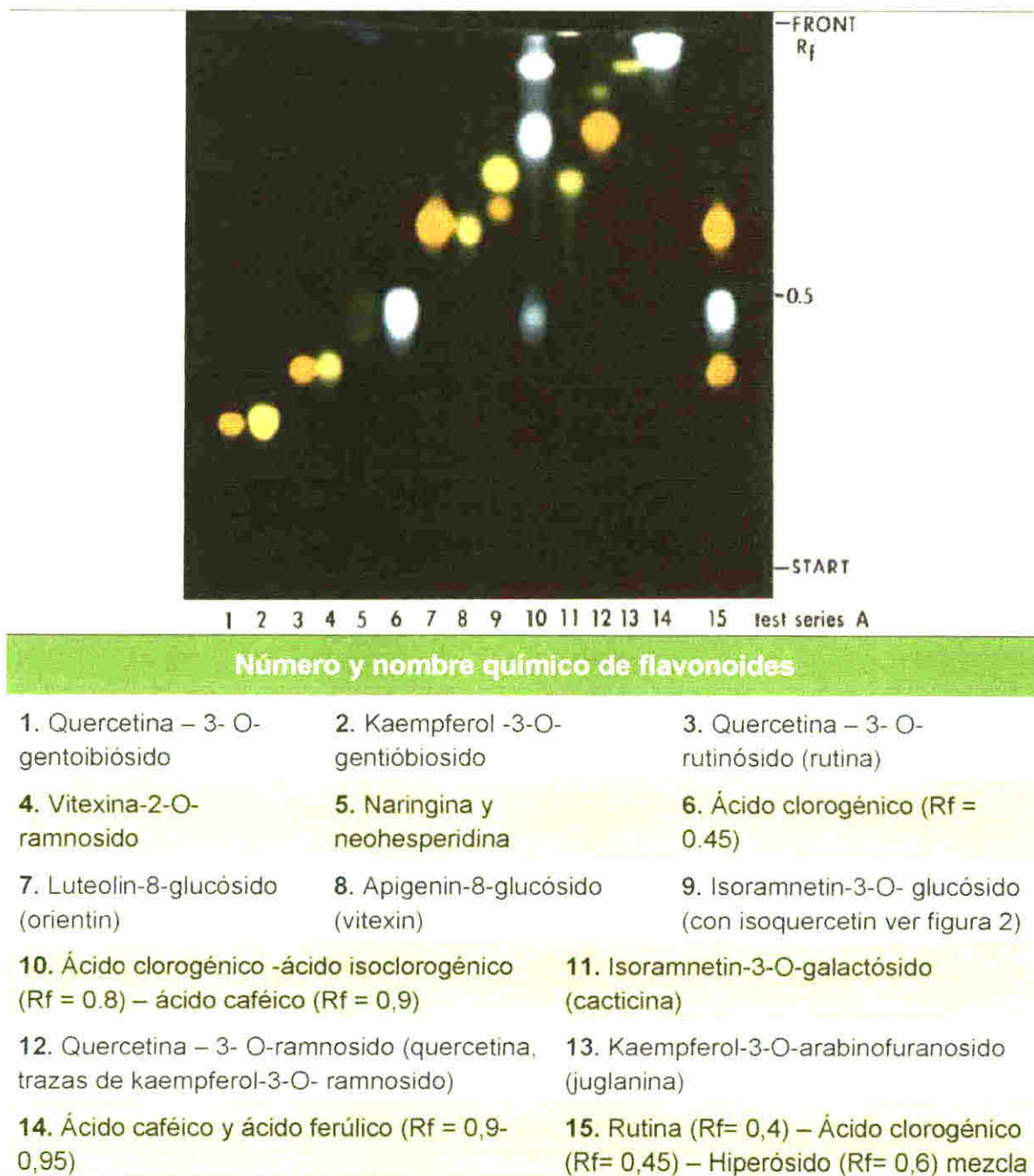


## 2 Procedimiento

El sistema utilizado para la identificación preliminar de flavonoides contiene como fase móvil acetato de etilo ácido fórmico ácido acético glacial agua en una proporción 100 11 11 26 respectivamente

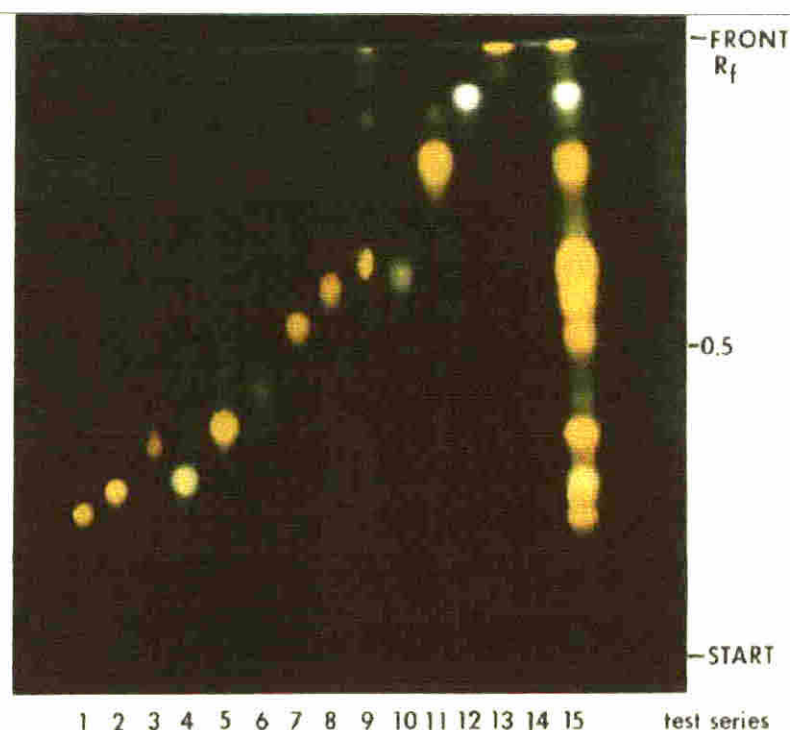
Se tomaron placas de aluminio de sílica gel de fase reversa 60 F<sub>254</sub> a las cuales se les colocaron 5 µL de muestra de los extractos a evaluar en una concentración de 10 mg/mL con una separación de aproximadamente 1 cm entre cada muestra. La sustancia usada como control para flavonoides fue quercetina 5 µL (1mg/mL). Se procedió a colocar la placa en la cámara. Para evidenciar la presencia de diferentes tipos de flavonoides se rocío el reactivo revelador el cual era una mezcla de la solución metanólica al 1% de difenilborlotrietilamina (NP)/solución etanólica al 5% de polietilenglicol (PEG) 4000 (NP/PEG). Y por último se dejó secar bien las placas para su evaluación en la cámara de fluorescencia a 365 nm.

*Interpretación* La presencia de flavonoides se identificó observando la coloración de las diferentes manchas obtenidas en el cromatograma comparadas con las manchas producidas por los diferentes controles de acuerdo a la posible estructura que presentan los mismos según los cromatogramas de referencia como se observa en los cuadros XII y XIII.

**Cuadro XII. CROMATOGRAMA DE REFERENCIA 1.**

Tomado de Wagner *et al.*, 2003.

Cuadro XIII. CROMATOGRAMA DE REFERENCIA 2.



Número y nombre químico de flavonoides		
1. Quercetina – 3- O-gentoibiosido	2. Quercetina – 3- O-soporósido	3. Quercetina – 3- O-galactosil-7-O-ramnósido
4. Kaempferol - 3-O-gentiobiosido	5. Quercetina – 3- O-rutinósido (rutina)	6. Kaempferol -3-O-ramnoglucósido
7. Quercetina – 3- O-glucurónido	8. Quercetina – 3- O-galactoside (hiperoside)	9. Quercetina – 3- O-glucósido (isoquercetrina)
10. Kaempferol -3, 7 -O-diramnósido (lespedina)	11. Quercetina – 3- O-arabinósido (quercetrina)	12. Kaempferol -3-O-arabinosa
13. Quercetina	14. Kaempferol	15. Mezcal del 1-14

Tomado de Wagner *et al.*, 2003.

Los colores de las manchas observadas en los cromatogramas de las figuras anteriores corresponden a los nombres de diferentes estructuras químicas de origen flavonoides como se muestran en el siguiente cuadro.

**Cuadro XIV.** ESTRUCTURAS QUÍMICAS TIPO FLAVONOIDES QUE SE IDENTIFICAN POR COLORES EN LOS CROMATOGRAMAS DE REFERENCIA.

Tipos de flavonoides	Colores característicos de la mancha
Flavonoles: quercetina, miricetina	amarillo-naranja
Flavonoles: Kaempferol, isoramnetina y glucósidos	amarillo-verdoso
Flavonas: luteolina y glucósidos	naranja
Flavonas: apigenina y glucósidos	amarillo-verde

Además para cada mancha se midió la distancia conocida como  $R_f$  (factor de retención) la cual se define como la relación entre la distancia recorrida por el soluto y la distancia recorrida por el eluyente desde el origen de la placa. Bajo la siguiente descripción:

- $R_f < 0,5$ : Indica que la sustancia ha sido eluída una distancia menor a la mitad de lo que ha recorrido el eluyente
- $R_f = 0,5$ : Indica que la sustancia ha sido eluída justo a la mitad de la distancia de lo que recorrió el eluyente
- $R_f > = 0,5$ : Indica que la sustancia ha eluído más de la mitad de la distancia de lo que recorrió el eluyente.

## **C Ensayo Autobiográfico de actividad antioxidante utilizando DPPH**

### **1 Fundamento de la técnica**

Esta tecnica se basa en la utilizacion del compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) el cual es un radical libre de color violeta que en presencia de una sustancia antioxidante se reduce a (DPPH H) cambiando así a un color amarillo (Lopez *et al* 2007)

### **2 Procedimiento**

Se colocaron en las placas de aluminio de Silica Gel Fase Reversa RP 18F254s 5 µL de las diferentes muestras de extractos metanolicos a una concentracion de 10 mg/mL a una distancia de 1 cm entre cada muestra y el control quercetina a una concentracion de 1 mg/mL (Tematica 2001 Badarinath *et al* 2010) Tras lo cual y con cuidado se colocaron las placas en sus respectivas camaras que contenian una fase movil de Metanol Agua en una proporcion 8:2

Una vez corridas las muestras se procedio a la aplicacion de DPPH (0.5%) como reactivo revelador Conociendo que la intensidad del cambio de color de morado a amarillo nos indica la efectividad de los extractos como antioxidantes Se dejo secar bien las placas y se llevo al luminometro de luz UV a una longitud de onda de 365 nm para su lectura Los resultados se reportaron de acuerdo a la presencia de una mancha de color amarillo la lectura se realizo a los 30 minutos y para una mejor visualizacion de las

manchas tambien se leyo a los 300 minutos Dando el valor de una cruz cuando la intensidad del color observado era leve Dos cruces para cuando la intensidad de color era moderada Y tres cruces cuando la intensidad de color era bien marcada Los resultados obtenidos se compararon con quercetina sustancia usada como control la cual fue identificada con tres cruces

## **D Porcentaje de inhibicion frente a DPPH por un método en microplato de 96 pocillos utilizando un lector ELISA**

### **1 Fundamento de la técnica**

Esta tecnica se basa en la utilizacion del compuesto 2,2-difenilpicrilhidracilo (DPPH) el cual es un radical libre de color violeta que en presencia de una sustancia antioxidante se reduce a (DPPH H) cambiando así a un color amarillo (Lopez *et al* 2007) Por tal razon es posible medir la capacidad atrapadora de radicales libres de una sustancia mediante evaluaciones espectrofotometricas midiendo los cambios en la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm (Murillo *et al* 2007) La diferencia de absorbancias permite obtener el porcentaje de captacion de radicales libres por parte de la sustancia evaluada

### **2 Procedimiento**

Para determinar el porcentaje de inhibicion de radicales libres de los extractos se utilizo la tecnica de ELISA con microplacas de 96 pocillos Ademas se prepararon 30 mL de la solucion de DPPH a una concentración de

5 mg/mL en 2 mL de metanol con el cuidado de mantenerla en oscuridad a una temperatura de 4 °C. En cada pocillo de la microplaca se depositó un volumen de 100 µL del extracto metanólico a ensayar más 100 µL de DPPH a la concentración de 300 µM para completar un volumen final de 200 µL.

Para evaluar los extractos fue necesario ensayar sus concentraciones en forma seriadas desde 2.35 µg/mL hasta 5.000 µg/mL. Usando metanol como solvente. Como sustancias estándares se utilizaron quercetina y ácido clorogénico de las cuales se tomaron 100 µL a una concentración de 1 mg/mL como blanco se usó una mezcla de 100 µL DPPH más 100 µL de metanol y como control 200 µL metanol.

Fue necesario conservar la microplaca tapada y en un lugar oscuro durante 30 minutos para ser leído con un lector de ELISA a una longitud de onda de 515 nm. Posteriormente a la lectura se procedió a calcular el porcentaje de inhibición usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = 1 - \left[ \frac{\text{OD DPPH} - \text{OD muestra}}{\text{OD(DPPH)}} \right] \times 100\%$$

Siendo OD la densidad óptica.

Los resultados fueron representados a través de una curva dosis respuesta gradual (CDRG) y analizados mediante un análisis sigmoidal de los valores del DPPH en función de la concentración de la muestra. Se calculó la concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) de inhibición de radicales libres (Gokani *et al*, 2011).

## **E Evaluación estadística de los resultados**

Los resultados del porcentaje de inhibición ante DPPH fueron expresados en función de la media  $\pm$  e s m y las representaciones gráficas se realizaron mediante el programa Microsoft Excel (version 2010) La estadística de los resultados se realizó mediante Anova de una vía con análisis post hoc de Dunnett s múltiple El contraste estadístico de los resultados se realizó considerando los valores  $p < 0.05$  como estadísticamente significativos



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio contemplo la evaluacion antimicrobiana farmacologica y antioxidante de extractos metanolicos de seis plantas de la familia Fabaceae que incluye a *Albizia adinocephala* (J D Sm ) Britt & Rose (corteza) *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz (hojas) *Diploptropis purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo) *Machaerum sp* (tallo) *Macroptilium lathyroides* (L ) Urban (raiz) y *Ormosia coccinea* (Aubl ) Jacks (raquis infructescencia)

A continuacion describiremos para cada una de las plantas ensayadas los resultados obtenidos de las evaluaciones realizadas

### I DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

De cada planta se presentan los resultados obtenidos en cuadros y figuras y enseguida se hace la discusion de dichos resultados

#### **A *Albizia adinocephala* (J D Sm ) Britt & Rose (corteza)**

Como se observa a continuación en el cuadro XV y en la figura 21 en la evaluacion del perfil de actividad antimicrobiana presentado por el extracto metanolico de la corteza de *A adinocephala* el extracto presento actividad frente a una bacteria G ( ) *E coli* y frente a dos bacterias G (+) *S aureus* y *B subtilis* así mismo pudo inhibir el crecimiento de una bacteria resistente el MRSA

**Cuadro XV.** ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA CORTEZA DE *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose.

<b><i>A. adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. &amp; Rose (corteza) µg/mL</b>	Crecimiento de UFC/mL					
	Bacterias G (-)			Bacterias G (+)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA
1000	0	50 000	50 000	0	0	0
500	0			0	0	0
250	10 000			<50 000	0	0
125	30 000			75 000	10 000	0
Determinación de la CIM y de la CBM en µg/mL						
CIM	400			400	200	125
CBM	500			450	225	150
Antimicrobianos de referencia						
CIM	≤1	≤1	≤2	≤1	≤1	≤3
CBM	2	2	4	2	2	4

Concentraciones del extracto      Bacterias G (-)      Bacterias G (+)      Gentamicina 2 µg/mL      Vancomicina 4 µg/mL  
 Gentamicina 4 µg/mL

CIM = Concentración Inhibitoria Mínima,

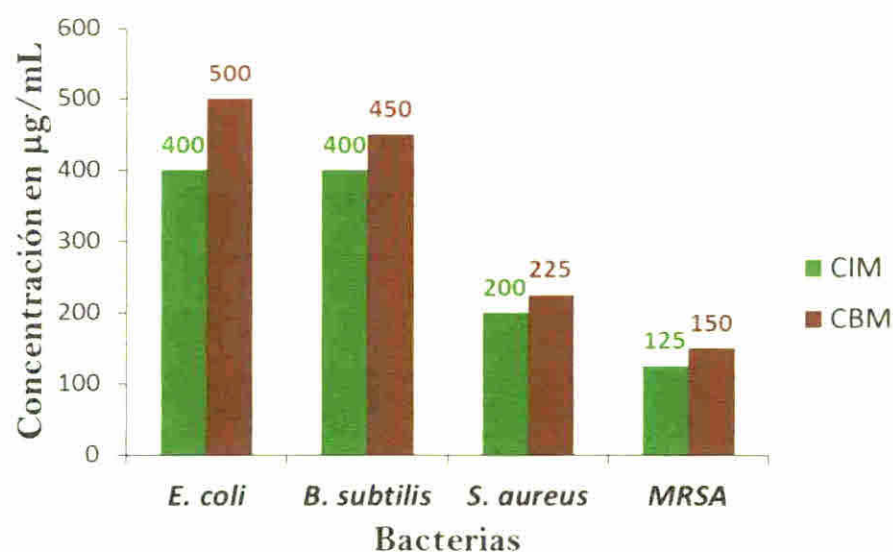
CBM = Concentración Bactericida Mínima

UFC/mL = Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias

0 = No hubo crecimiento bacteriano, significa que hubo inhibición total del crecimiento bacteriano

MRSA = *Staphylococcus aureus* meticilina resistente

Los experimentos fueron realizados por triplicado.

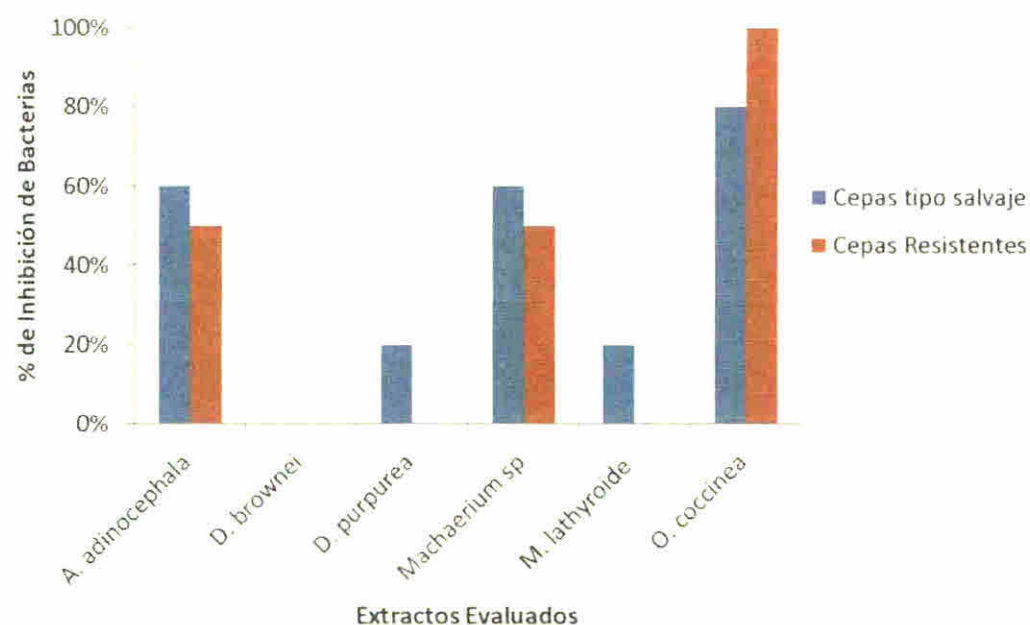


**Fig. 21.** Concentración inhibitoria mínima del extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala* para las bacterias utilizadas.

En la figura siguiente se representan los porcentajes de inhibición bacteriana obtenidos por los diferentes extractos evaluados frente a cepas tipo salvaje (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *S. aureus*) y cepas resistentes (MRSA, KPC) ensayadas en el estudio.

Por lo que podemos decir, que *A. adinocephala* presentó una inhibición del crecimiento bacteriano de un 60% de las cepas fenotipo salvaje al inhibir tres de las cinco bacterias evaluados (3/5), y un 50% de inhibición de las cepas resistentes al inhibir una de las dos bacterias resistentes (1/2), como se observa en la figura anterior.

Cabe mencionar que el extracto metanólico de la corteza de *A. adinocephala*, no presentó actividad contra *K. pneumoniae* ni contra *P. aeruginosa* como se observa en la figura anterior.



**Fig. 22.** Porcentajes de inhibición bacteriana presentada por los extractos evaluados frente a los diferentes tipos de cepas ensayadas.

En cuanto a la actividad antimicrobiana que presentó el extracto metanólico de la corteza de *A. adinocephala*, frente a *S. aureus* y MRSA, llama la atención que este extracto mostró su mayor potencia antimicrobiana frente a la bacteria meticilino resistente, con valor de CIM de 125  $\mu\text{g/mL}$ , comparado con el valor de la CIM obtenido para la cepa tipo salvaje la cual fue de 200  $\mu\text{g/mL}$ . De tal forma que el valor de la CIM obtenido para MRSA fue el valor más pequeño de todos las CIM encontradas durante nuestro estudio. Este resultado es de gran relevancia al considerar que las cepas de MRSA son a menudo causantes de las infecciones emergentes que son una amenaza significativa para los pacientes hospitalizados, aumentando así la tasa de infección nosocomial. Por otra parte, las cepas de este tipo son a menudo resistente a múltiples fármacos y las opciones terapéuticas cada vez

son mas limitadas (Quave *et al* 2011) Es importante mencionar que en la literatura se describe actividad contra MRSA para una especie diferente al de *A adinocephala* es decir para *A schimpenana* (Samoylenko *et al* 2009)

A continuacion se explican las posibles causas de el por que el extracto metanolico de la corteza de *A adinocephala* fue mas activo frente a MRSA que frente a una cepa fenotipo salvaje

1 Es posible que las biomoléculas presentes en el extracto responsables de la actividad biologica ejerzan el efecto antibacteriano por un mecanismo de accion diferente al utilizado por los antimicrobianos convencionales usados para MRSA evadiendo eficazmente los mecanismos de resistencia producidos por MRSA

2 A que el extracto pudiera contener diferentes compuestos activos responsables de la actividad antibacteriana Por lo tanto estarian presentes varios mecanismos antimicrobianos sinergizando asi el efecto

3 O bien tambien se pudiera deber a un cambio en la proporcion de la composicion del extracto relacionado con la disolucion del mismo

En cualquiera de los casos seria interesante realizar nuevos estudios que definan la validez de estos resultados

Cabe mencionar que uno de los mecanismos de resistencia para las cepas *S aureus* fenotipo salvaje pueden ser la modificacion o inactivacion del antimicrobiano la cual es el mecanismo mas comun de resistencia adquirida y esta determinado en gran medida por la produccion de enzimas como las

betalactamasas (Cordies *et al* 1998) De tal forma que al realizarse un antibiograma a la cepa MRSA en el equipo Vytex esta bacteria resulto ser resistente a ampicilina oxacilina meticilina tetracilinas y gentamicina y sensible a ciprofloxacino levofloxacino eritromicina clindamicina linezolid teicoplanina vancomicina minociclina y al trimetropin con sulfametoxazol Por consiguiente se utilizo vancomicina para poder inhibir su crecimiento como se observa en el cuadro anterior (XV) Mientras que la cepa de *S aureus* resulto ser sensible a todos los antimicrobianos antes mencionados utilizandose para el estudio gentamicina como antimicrobiano de referencia

Por otro lado como se observa en la cuadro XV *A adinocephala* inhibio el crecimiento de *E coli* con una CIM de 400 µg/mL Dato que ya habia sido evaluado en otra especie diferente a *A adinocephala* en donde se evaluo la actividad antidiarreica de las semillas de *A lebbeck* (Benth) en extraccion acuosa metanolica empleando diferentes modelos convencionales (transito intestinal comparado con diferentes sustancias ya conocidas activadoras de diarrea) en ratas y ratones (Besra *et al* 2000) Los resultados del estudio revelaron que el extracto metanólico acuoso de las semillas de *A lebbeck* posee actividad antidiarreica Esto pudiera explicar la razon por la que esta planta se usa en el tratamiento temprano de la diarrea y la disenteria Ya que *E coli* es un agente causante de cuadros diarreicos de importancia clinica Bajo el mismo enfoque otros estudios revelaron que otras especies del genero *Albizia* presentan actividad significativa frente a *E coli* como se observa en la siguiente pagina en el cuadro XVI

Ademas el extracto metanolico obtenido de la corteza de *A adinocephala* tambien inhibio el crecimiento de *B subtilis* con un valor de la CIM de 400 µg/mL cabe mencionar que en la bibliografia revisada existe un reporte de actividad antimicrobiana para una especie del genero *Albizia* como lo es la *A chinensis* contra dicha bacteria (Ghaly *et al* 2010) datos reportados en cuadro XVI

Especificamente ni para el extracto metanolico de *A adinocephala* ni para algun otro extracto de ella en la bibliografia revisada hasta el momento no existen ensayos que reporten evaluacion de la actividad antimicrobiana ya que solo se le ha encontrado actividad antimalarica contra *Plasmodium falciparum* en plantas colectada en tierras Panamenas en que se identifico plasmepsinas que son proteasas que parecen ser indispensables para la supervivencia del parasito y tienen un profundo efecto sobre la multiplicacion del parasito in vitro (Ovenden *et al* 2002)

Sin embargo para otras especies del mismo genero como se observa a continuacion en el cuadro XVI se encuentran diferentes ensayos de actividad antimicrobiana dentro de los que destaca el efecto contra *S aureus* en *A chinensis* (Ghaly *et al* 2010) Otro dato reporta el efecto de *A inundata* contra ciertas bacterias (Barboza *et al* 2009) Lo cual podria explicar la razon por lo que la planta se utiliza para tratar las heridas en la medicina China tradicional en donde el agente causal involucrado en un proceso infeccioso originado por heridas pudiera ser *S aureus*



**Cuadro XVI.** DESCRIPCIÓN DE ESTUDIOS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA PARA DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Albizia*

Información de la especie del género <i>Albizia</i>	Bacterias evaluadas	Resultados del estudio	Comentario	Referencia bibliográfica
<i>A. chinensis</i> extracto metanólico de las hojas	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	Los compuestos ensayados mostraron actividad inhibidora moderada contra estas tres bacterias	Los resultados sólo lo reportan halos de inhibición en mm	Ghaly <i>et al.</i> , 2010.
<i>A. lebbbeck</i> (Benth.) extracto metanólico acuoso de las semillas	No usaron bacterias	Indican que el extracto poseía actividad antidiarréica	Utilizaron modelos de diarrea en roedores, evaluando tránsito gastrointestinal y la secreción de fluidos	Besra <i>et al.</i> , 2002.
<i>A. schimperiana</i> Oliv extracto metanólico acuoso y en extracto diclorometanol	MRSA, <i>E. coli</i> , <i>M. intracellulare</i>	Dos compuestos mostraron actividad significativa antimicrobiana in vitro frente a MRSA, <i>E. coli</i> , <i>M. intracellulare</i> .	Identificación de un nuevo alcaloide macrocíclico tipo espermina	Samoylenko <i>et al.</i> , 2009
<i>A. adianthifolia</i> extracto de acetato de etilo, fracciones y compuestos aislados de la corteza del tallo	<i>E. faecalis</i> <i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. typhi</i>	El extracto el extracto crudo, fue activo contra estas tres bacterias evaluadas. El CIM valores obtenidos variaron de y 0,04 a 6.25mg/mL	Usan las mismas cepas ATCC que en nuestros estudio. Los valores de CIM fueron a menudo iguales o inferiores al de las drogas de referencia.	Tamokou <i>et al.</i> , 2012
<i>Albizia myriophylla</i> Madera	<i>Streptococcus mutans</i>	De 7 los compuestos aislados todos mostraron actividad contra <i>S. mutans</i> con la CIM (1-256 µg/mL) y CBM (2-256 µg/mL). El compuestos aislados, lupinifolin se encontró que era el más potente con CIM y CBM de 1 y 2 µg /mL, respectivamente. Lupinifolin también mostró una fuerte actividad contra diez aislados clínicos de <i>S. mutans</i> .	Lupinifolin pueden tener un potencial clínico para ser un agente anticaries natural.	Joycharat <i>et al.</i> , 2013



## **B *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz (hojas)**

Como se observa a continuacion en el cuadro XVII el extracto metanolico de las hojas de *D brownii* a la dosis de 1000 µg/mL no presento actividad antibacteriana contra ninguna de las bacterias evaluadas ni de tipo salvaje ni de tipo resistente

En la literatura consultada hasta el momento no se encontraron reportes de actividad antimicrobiana Para *D brownii* solo existen un reporte de sus usos en la medicina tradicional en el que se describe que su tallo sus hojas y su raiz son utilizadas para tratar la diarrea las erupciones en la piel y como astringente y (Coe *et al* 1996b)

Para otra especie para *D melanoxylon* se ha descrito que la planta es usada para la tratar la bronquitis la diarrea la sifilis y la amebiasis por los curanderos del noreste de Tanzania Africa (Hedberg *et al* 1983)

Aunque para *D brownii* no existen reportes de actividad antimicrobiana y nuestros resultados indican que el extracto metanolico de las hojas de *D brownii* no presento efecto si existen reportes para otras especies de este género como se describe a continuacion

Cuadro XVII. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Dalbergia browniei*

<i>Dalbergia browniei</i> (Jacq.) Schinz (hojas) µg/mL	Crecimiento de UFC/mL				
	Bacterias G (-)			Bacterias G (+)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
100 0	75 000	<10 000	50 000	10 000	10 000
500					
250					
125					
Determinación de la CIM y de la CBM en µg/mL					
CIM					
CBM					
Antimicrobianos de referencia					
CIM	≤1	≤1	≤2	≤1	≤1
CBM	2	2	4	2	2

Concentraciones del extracto      Bacterias G (-)      Bacterias G (+)      Gentamicina 2 µg/mL      Gentamicina 2 µg/mL

CIM = Concentración Inhibitoria Mínima  
CBM = Concentración Bactericida Mínima  
UFC/mL = Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias  
0 = No hubo crecimiento bacteriano, significa que hubo inhibición total del crecimiento bacteriano  
Los antimicrobianos de referencia usados para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, y *S. aureus* fue gentamicina.  
Los espacios en blanco que aparecen en el cuadro indican que no se realizó el ensayo ya que hubo crecimiento bacteriano a la concentración de 1000 µg/mL.  
Los experimentos fueron realizados por triplicado

1 En la evaluación de la actividad antibacteriana contra *E coli* *P aeruginosa* *Salmonella typhimurum* y *Yersinia pestis* *B subtilis* *K pneumoniae* y *S aureus* Y en actividad antimicótica contra *C albicans* y *A niger* en extracción etanólica acuosa ácido cítrico diclorometano y éter de petróleo de la corteza de *D melanoxylon* los resultados obtenidos indican que la extracción etanólica tuvo actividad significativa mientras que la extracción obtenida a partir de ácido cítrico mostró actividad contra las bacterias y no contra hongos y la extracción en diclorometano exhibió actividad contra hongos y no contra las bacterias Por último el extracto obtenido a partir de éter de petróleo no mostró actividad antimicrobiana (Gundidza *et al* 1993)

2 Resultados del bioensayo realizado en el extracto metanólico de las hojas de *D nigra* mostraron que la planta era muy activa frente a *S aureus* y *P aeruginosa* y activa contra *B subtilis* y *E coli* (De Almeida *et al* 2000)

3 Evaluación preliminar del extracto metanólico y etanólico de *D candenatensis* a los cuales se les identificaron flavonoides con actividad antimicrobiana frente a diferentes bacterias y hongos por la técnica de bioautografía (Hamburger *et al* 1987)

4 Además de que a las plantas del género *Dalbergia* se le ha asociado a la producción de propóleos sustancias ricas en terpenos ácidos orgánicos y flavonoides moléculas para las cuales se les ha

descrito actividad antimicrobiana demostrando actividad contra *S aureus* y *E coli* (Fernandez M 2007)

Al igual que lo observado con el extracto metanolico de las hojas de *D brownei* para otra especie como lo es *D obovata* E Mey en extraccion acuosa reportaron que la planta no mostro tener actividad antimicrobiana frente a *S aureus* *S epidermis* *B subtilis* *E coli* y *K pneumoniae* (Rabe et al 1997)

### **C *Diplotropis purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo)**

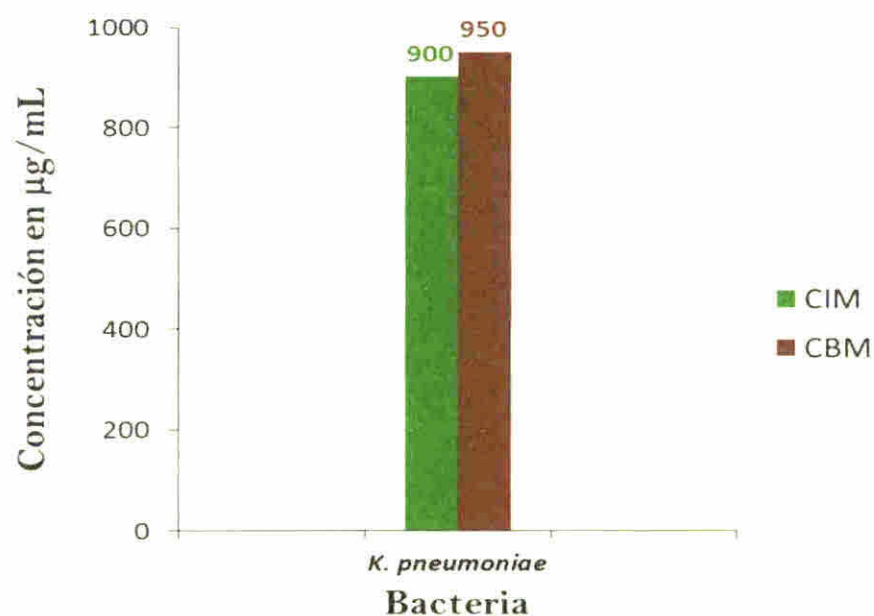
Al evaluar la actividad antibacteriana del extracto metanolico del tallo de *D purpurea* (Rich ) Amshoff pudimos observar que de las cinco bacterias evaluadas en este estudio solo *K pneumoniae* presento sensibilidad frente al extracto En el cuadro XVIII y en la figura 23 podemos observar que la actividad inhibitoria se acompaña de una CIM de 900 µg/mL En la figura 22 podemos ver que el extracto presento 20% de inhibicion para las cepas tipo salvaje (1/5) y 0% de inhibicion para cepas resistentes (0/0)

Aunque en nuestro ensayo el extracto metanolico del tallo de *Diplotropis purpurea* no presento actividad antimicrobiana significativa y no se reportan estudios de este tipo en la literatura consultada para una especie de este genero como lo es el extracto etanolico de la corteza de *D ferruginea* existe un estudio realizado en el cual se le evaluo la accion antibacteriana frente a diferentes bacterias G ( ) y G (+) con algunos numeros de ATCC iguales a los

**Cuadro XVIII.** ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO DEL TALLO DE *Diplotropis purpurea*.

<i>Diplotropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff (tallo) µg/mL.	Crecimiento de UFC/mL					
	Bacterias G (-)				Bacterias G (+)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1000	75 000	0	75 000	100 000	50 000	65 000
500		50 000				
250		75 000				
125		75 000				
Determinación de la CIM y de la CBM en µg/mL						
CIM		900				
CBM		950				
Antimicrobianos de referencia						
CIM	≤1	≤1	≤2	≤2	≤1	≤1
CBM	2	2	4	8	2	2

Concentraciones del extracto      Bacterias G (-)      Bacterias G (+)      Gentamicina 2 µg/mL      Tigeciclina 8 µg/mL  
 CIM = Concentración Inhibitoria Mínima      Gentamicina 4 µg/mL  
 CBM = Concentración Bactericida Mínima  
 UFC/mL = Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias  
 0 = No hubo crecimiento bacteriano, significa que hubo inhibición total del crecimiento bacteriano  
 Los antimicrobianos de referencia usados para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, y *S. aureus* fue gentamicina  
 Los espacios en blanco que aparecen en el cuadro indican que no se realizó el ensayo ya que hubo crecimiento bacteriano a la concentración de 1000 µg/mL.  
 Los experimentos fueron realizados por triplicado



**Fig. 23.** Concentración inhibitoria mínima del extracto metanólico del tallo de *Diplotropis purpurea* para las bacterias utilizadas.

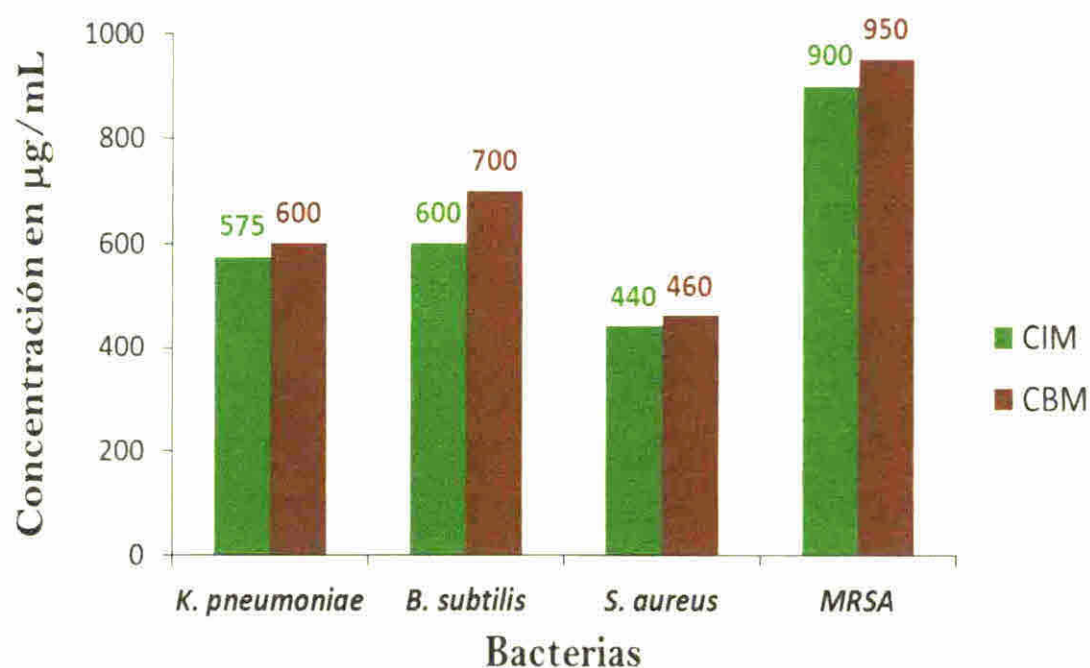
usados en nuestro estudio, entre ellas *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *E. coli*. Reportando que el extracto presentó actividad contra *P. aeruginosa* con un valor de CIM de 1000 y de 500 µg/mL, contra *E. coli* con una CIM de 128 µg/mL (Cerqueira et al., 2011).

#### **D. *Machaerium* sp. (tallo)**

Para plantas del género *Machaerium* existen varios reportes de actividad antimicrobiana. En este marco de actividad, se evidencian los resultados de inhibición bacteriana obtenidos en nuestro estudio. En el cual, el extracto metanólico del tallo de *Machaerium* sp., inhibió de manera significativa, el crecimiento de *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. subtilis* y MRSA, con valores de CIM de 575, 440, 600 y 900 µg/mL respectivamente, pero sin actividad contra



KPC, datos representados en el cuadro XIX y en la figura 24. Por lo tanto, podemos decir que el extracto presentó un 60% (3/5) de inhibición ante las cepas tipo salvaje y un 50% (1/2) de inhibición para las cepas resistentes, datos que se observan en la figura 22. Observando que la mayor potencia antimicrobiana la presentó frente a *S. aureus*. Resultados que ya se habían reportado para otra especie de *Machaerium*, en los cuales se encontraron actividad inhibitoria importante del extracto etanólico de las hojas de *M. floribundu*, frente a *S. aureus*, con valor de la CIM de 2 mg/mL y de la CBM 5 mg/mL. El estudio se llevó a cabo con el objetivo de encontrar un tratamiento alternativo para el acné vulgar y la regeneración del tejido cutáneo (Díaz *et al.*, 2011).



**Fig. 24.** Concentración inhibitoria mínima del extracto metanólico del tallo de *Machaerium sp.* para las bacterias utilizadas.

**Cuadro XIX.** ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO DEL TALLO DE *Machaerium* sp.

<i>Machaerium</i> sp. (tallo) µg/mL.	Crecimiento de UFC/mL						
	Bacterias G (-)				Bacterias G (+)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA
1000	75 000	0	75 000	75 000	0	0	0
500		<10 000			<10 000	0	75 000
250		30 000			50 000	10 000	75 000
125		50 000			75 000	50 000	75 000
Determinación de la CIM y de la CBM en µg/mL							
CIM		575			600	440	900
CBM		600			700	460	950
Antimicrobianos de referencia							
CIM	≤1	≤1	≤2	≤2	≤1	≤1	≤3
CBM	2	2	4	8	2	2	4

Concentraciones del extracto

Bacterias G (-)

Bacterias G (+)

Gentamicina 2 µg/mL

Vancomicina 4 µg/mL

CIM = Concentración Inhibitoria Mínima

Gentamicina 4 µg/mL

Tigeciclina 8 µg/mL

CBM = Concentración Bactericida Mínima

UFC/mL = Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias

0 = No hubo crecimiento bacteriano, significa que hubo inhibición total del crecimiento bacteriano

MRSA = *Staphylococcus aureus* meticilina resistenteLos antimicrobianos de referencia usados para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, y *S. aureus* fue gentamicina. Para MRSA se usó vancomicina.

Los espacios en blanco que aparecen en el cuadro indican que no se realizó el ensayo ya que hubo crecimiento bacteriano a la concentración de 1000 µg/mL.

Los experimentos fueron realizados por triplicado



Para el genero *Machaenum* tambien se han descrito propiedades antimicrobianas en patologias relacionadas con procesos infecciosos tales como la diarrea hasta llegar a obtener un producto llamado procianidina responsable del efecto antibacteriano contra *Pseudomonas maltophilia* y *Enterobacter cloacae* (Diaz et al 2011)

Aunque en nuestro estudio no se observa una inhibicion del crecimiento de *E coli* la capacidad del extracto para inhibir *S aureus* se puede relacionar con la utilidad que se le da a este genero como antidiarreico (Diaz et al 2011) ya que la presencia de esta bacteria o de sus toxinas propias tambien se asocian con el aumento de la frecuencia de evacuaciones

Otro estudio realizado en las hojas de *M opacum* en extraccion con dicloro metano evaluados en diferentes bacterias con numeros de ATCC igual a los utilizados en nuestro estudio como son *E coli* (ATCC 25922) *P aeruginosa* (ATCC 27853) y *S aureus* (ATCC 25923) y *B cereus* Cabe mencionar que el bacilo *B cereus* pertenece a la misma familia a la cual pertenece el *B subtilis* Los resultados de este bioensayo indicaron que el extracto resulto ser activo (2) contra *S aureus* y muy activo (3) para *B cereus* (De Almeida et al 2000)

De igual manera otros estudios evaluan a *M multiflorum* planta a la cual se le identifico cinco compuestos denominados machaeriol C machaeriol D machaeridiol A machaeridiol B y machaeridiol C Sus estructuras y estereoquimicas se determinaron mediante los datos de resonancia magnetica nuclear Observandose que Machaeriol C demostro actividad

antibacteriana *in vitro* contra *S. aureus* y MRSA con valores de la  $CI_{50}$  de 0.65 y 0.70  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente mientras que sus analogos machaeridiol A y machaeridiol B mostraron actividad antibacteriana contra *S. aureus* y MRSA con valores de la  $CI_{50}$  que oscilan entre 1.0 y 2.6  $\mu\text{g/mL}$  (Muhammad *et al* 2003)

#### **E *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (raiz)**

Al evaluar la actividad antibacteriana del extracto metanólico de la raíz de *M. lathyroides* como se muestra en el cuadro XX y figura 25 se encontro que el extracto sólo inhibio el crecimiento de una de las cinco bacterias evaluadas en nuestro estudio. Es decir unicamente fue activo frente a *B. subtilis* con un valor de CIM de 500  $\mu\text{g/mL}$ . Como se observa en la figura 22 el extracto inhibio el 20% (1/5) de las cepas tipo salvaje un 0% (0/2) para las cepas resistentes.

Aunque no se encuentran estudios de actividad antibacteriana para *M. lathyroides* existe un estudio llevado a cabo con el extracto metanólico de las hojas de *M. atropurpureum* en donde se encontro actividad inhibitoria frente a *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *E. coli* (Chittamuri *et al* 2012).

A todo esto podemos recalcar la importancia que representa el identificar las fracciones activas presentes en los extracto de una planta ya que la presencia de ellos explica su acción biológica. Por consiguiente se sabe que

**Cuadro XX.** ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA RAÍZ DE *Macroptilium lathyroides*.

<b><i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz) µg/mL.</b>	Crecimiento de UFC/mL				
	Bacterias G (-)			Bacterias G (+)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1000	75 000	75 000	75 000	0	50 000
500				10	
250				<50 000	
125				50 000	
Determinación de la CIM y de la CBM en µg/mL					
CIM				500	
CBM				550	
Antimicrobianos de referencia					
CIM	≤1	≤1	≤2	≤1	≤1
CBM	2	2	4	2	2

Concentraciones del extracto      Bacterias G (-)      Bacterias G (+)      Gentamicina 2 µg/mL      Gentamicina 4 µg/mL

CIM = Concentración Inhibitoria Mínima

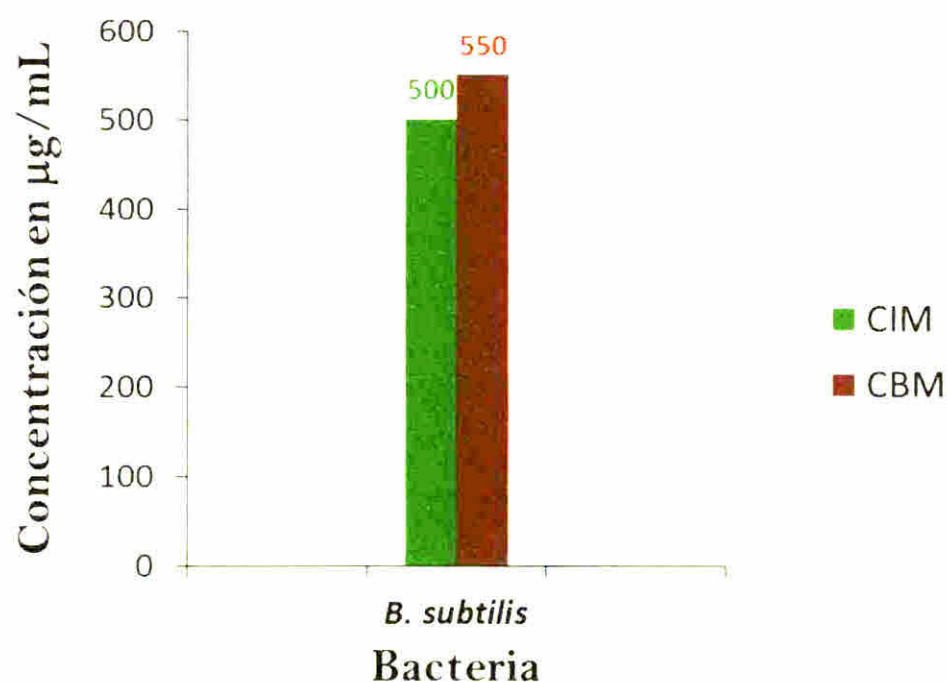
CBM = Concentración Bactericida Mínima

UFC/mL = Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias

0 = No hubo crecimiento bacteriano, significa que hubo inhibición total del crecimiento bacteriano

Los antimicrobianos de referencia usados para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, y *S. aureus* fue gentamicina. Los espacios en blanco que aparecen en el cuadro indican que no se realizó el ensayo ya que hubo crecimiento bacteriano a la concentración de 1000 µg/mL.

Los experimentos fueron realizados por triplicado



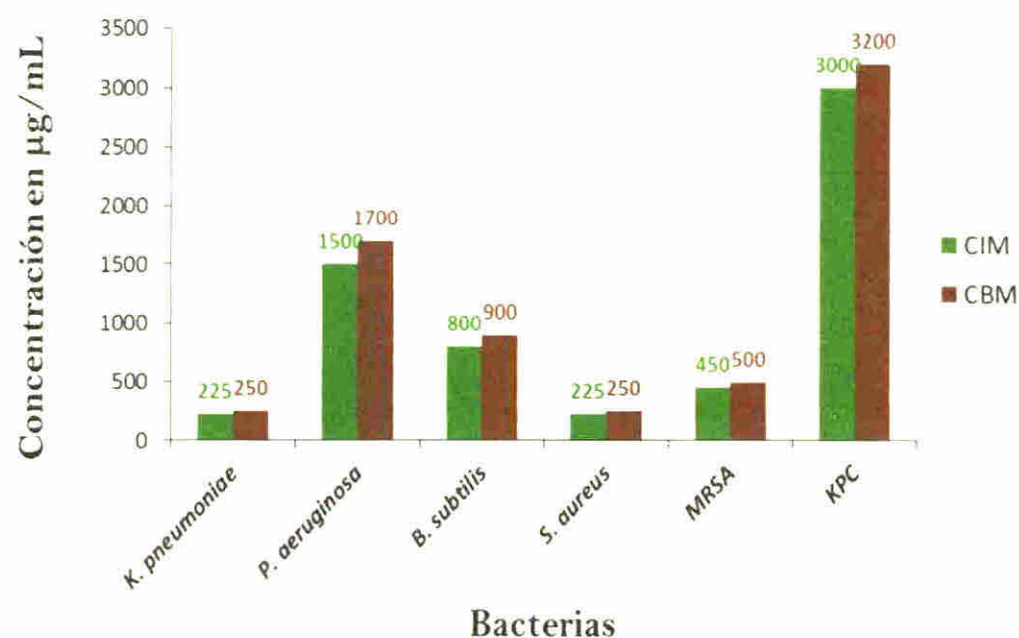
**Fig. 25.** Concentración inhibitoria mínima del extracto metanólico de la raíz de *Macropitilium lathyroides* (L.) Urban para las bacterias utilizadas.

la presencia de dichas sustancias varía entre plantas aun dentro del mismo género. Por lo tanto, podemos pensar que, el hecho de no haber identificado acción antimicrobiana en *M. lathyroides*, para seis de las siete bacterias evaluadas en nuestro estudio, dependerá del tipo y de la cantidad de los compuestos bioactivos que estén presentes en la planta. Por lo anterior explicado, se recomienda identificar el tipo y la cantidad de moléculas bioactivas presentes en diferentes partes de la planta. Así como se hizo para *M. atropurpureum* en donde se identificaron y cuantificaron sustancias tipo fenoles, flavonoides, terpenoides, hidratos de carbono, proteínas, saponinas, indoles, glucósidos y antocianidinas contenidas en la planta responsables de la actividad biológica (Chittamuri *et al.*, 2012).

#### F. *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks (raquis infructescencia)

Resultados plasmados en el cuadro XXI y figura 26 indican que el extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks. (raquis infructescencia), fue una de las plantas más eficaces, ya que mostró actividad antibacteriana frente a *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, con valores de la CIM de 225, 225, 800 y 1500 µg/mL, respectivamente.

Además de ser activa frente a bacterias resistentes como lo es MRSA Y KPC. Presentando un 80% de inhibición del crecimiento bacteriano de las cepas fenotipo salvaje al inhibir 4/5 de las bacterias evaluadas. Ante las cepas tipo resistentes el extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks (raquis infructescencia) presentó el 100% de actividad antibacteriana al inhibir 2/2 de las bacterias ensayadas como se observa en la figura 22.



**Fig. 26.** Concentración inhibitoria mínima del extracto metanólico de raquis infructescencia de *Ormosia coccinea* para las bacterias utilizadas.



**Cuadro XXI.** ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE RAQUIS INFRUCTESCENCIA DE *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks

<i>Ormosia coccinea</i> (raquis infructescencia) µg/mL.	Crecimiento de UFC/mL						
	Bacterias G (-)				Bacterias G (+)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA
1000	30 000	0	5 000	<10 000	0	0	0
500		0		30 000	10 000	0	0
250		0		75 000	50 000	0	50 000
125		50 000		100 000	75 000	50 000	75 000
Determinación de la CIM y de la CBM en µg/mL							
CIM		225	1 500	3 000	800	225	450
CBM		250	1 700	3 200	900	250	500
Antimicrobianos de referencia							
CIM	≤1	≤1	≤2	≤2	≤1	≤1	≤3
CBM	2	2	4	8	2	2	4

Concentraciones del extracto      Bacterias G (-)      Bacterias G (+)      Gentamicina 2 µg/mL      Vancomicina 4 µg/mL

CIM = Concentración Inhibitoria Mínima      Gentamicina 4 µg/mL      Tigeciclina 8 µg/mL

CBM = Concentración Bactericida Mínima

UFC/mL = Unidades formadoras de colonia por mililitro de bacterias

0 = No hubo crecimiento bacteriano, significa que hubo inhibición total del crecimiento bacteriano

MRSA = *Staphylococcus aureus* meticilina resistente

KPC = *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa

Los antimicrobianos de referencia usados para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, y *S. aureus* fue gentamicina. Para MRSA se usó vancomicina. Para KPC se utilizó tigeciclina.

Los espacios en blanco que aparecen en el cuadro indican que no se realizó el ensayo ya que hubo crecimiento bacteriano a la concentración de 1000 µg/mL.

Los experimentos fueron realizados por triplicado

Como se puede observar en el cuadro XXI *O. coccinea* también presentó actividad frente a *K. pneumoniae* bacteria G ( ) capsulada este dato es importante al considerar que esta bacteria es el agente causal de múltiples patologías para el hombre como son infecciones del tracto urinario neumonías sepsis infecciones de tejidos blandos e infecciones de herida quirúrgica (Prescott *et al* 2008) Estas afecciones principalmente atacan a pacientes susceptibles como pueden ser los ingresados en unidades de cuidados intensivos neonatos pacientes con diabetes mellitus infectados por el virus de VIH y alcohólicos en donde su sistema inmunológico está deficiente Por lo antes expuesto a *K. pneumoniae* se le ha considerado como una de las principales bacterias responsables de las infecciones nosocomiales que en nuestro país en el 2011 cobró un centenar de vidas ante la aparición de una cepa multirresistente como lo es la KPC

Durante el estudio el Laboratorio Central del ICG analizó el fenotipo de la cepa de KPC y le realizó el perfil de resistencia a los antimicrobianos dando los resultados que se plasman en el cuadro XXII

Por ende toma importancia para nuestro estudio el hecho de que el extracto metanólico del raquis infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks presente actividad inhibitoria frente a una cepa de KPC aislada del CMDAAM dando a saber la posibilidad que tiene esta planta como fuente de futuras investigaciones en donde se pueda encontrar un compuesto efectivo y muy buscado contra la KPC De la misma manera se observa que el extracto presentó actividad antimicrobiana frente a MRSA

**Cuadro XXII.** PERFIL DE LA CEPA KPC AISLADA DE PACIENTES DEL CHAAM EN EL AÑO 2011

Antimicrobiano	Resultados del perfil del antibiograma (mm)		Conclusión
	Resistente	Sensible	
b-lactámicos: cefalosporinas de 1 a 4 generación	Cefalotina: 6mm Ceftriaxona: 6mm Ceftazidima: 6mm Cefotaxima: 7mm Cefepime: 12 mm; Cefotetán: 6mm		Fenotipo BLEE: positivo (inhibición leve con Clavulánico) B-lactamasa de espectro extremo
Monobactams	Aztreonam: 6 mm		B-lactamasa de espectro extremo
Cefamicina	Cefoxitina: 6mm		B-lactamasa de espectro extremo, no AmpC
Carbapenems	Meropenem: 17 mm Ertapenem: 15 mm	Imipenem: 20 mm	B-lactamasa tipo carbapenemasa Inhibible con Acido 3,4 aminofenilborónico Test de Hodge: positivo con meropenem y cefepime *: Resistente per se
Quinolonas y Fluorquinolonas	Ácido Nalidíxico: 6mm; R Ciprofloxacina: 6mm; R Levofloxacina: 6mm; R		QRDR, posible combinación genes <i>gyrA/B</i> y <i>parC/E</i>
Aminoglicósidos	Amikacina: 15 mm; Tobramicina: 11 mm;	Gentamicina: 21 mm;	Coexistencia de Acetilinas (AAC6'-I) y acetilaminotransferasas (Familia ANT 4--x)
Fosfomicina		Fosfomicina: 21 mm; S** **: 50 ug Fosfomicina+50 ug G6P	
Glicilglicinas	Tigeciclina: 2.0 ug/mL Según Normas CLSI: S	Según Normas EUCAST: I	
Biología Molecular	Gen blaKPC-2: Positivo Gen CTX-M: positivo		

**Conclusión Final:** La cepa presenta alto nivel de hidrólisis a todos los carbapenems, cefalosporinas, b-lactámicos, cefamicinas y monobactams ensayados. Alto nivel de resistencia a quinolonas y fluorquinolonas; resistencia a aminoglicósidos, sensible a pocos no b-lactámicos

**Resumen de los resultados:** cepa de KPC-2 positiva (a; 2f). Resistente a B-lactámicos y derivados, Portador de AAC6'-I, y ANT-4'. Portador QRDRG *gyr/par*. Sensible a glicilglicinas, Coexistencia de enzimas 2f y 2be (KPC Y BLEE *ctx-m*)



Un dato importante se observa ante *B subtilis* en donde el valor de la CIM fue muy alto con un valor de la CIM de 800 µg/mL. Por lo tanto podemos decir que el extracto metanolico de *O coccínea* es mas eficaz frente a bacterias de importancia patologica para el hombre como lo son a *K pneumoniae*, *S aureus* y *P aeruginosa* MRSA Y KPC. Pero no muy potente para bacterias esporuladas como lo es *B subtilis* siendo este un bacilo G (+) productor de endosporas que es termorresistente y tambien resiste a factores perjudiciales como la desecación, la radiacion, los acidos y los desinfectantes quimicos. Este bacilo es productor de antibióticos como la bacitracina, polimixina, gramicidina y circlulina. Es un gran controlador biologico, promueve el desarrollo de las plantas y previene las enfermedades del suelo (Cuervo 2012).

Es relevante mencionar que aunque en este estudio la planta mostro una excelente actividad antibacteriana, hasta el momento en la bibliografia consultada no existen estudios que reporten alguna actividad antibacteriana frente a las bacterias evaluadas en este estudio. Esto se podria deber a que los reportes tradicionales para esta planta nos dicen que es muy toxica y solo se usa para hacer adornos decorativos y joyas. Aunque la planta sólo podria tener usos a nivel local como se reporta en el siguiente estudio en donde se reporta actividad antibacteriana realizado a partir de la corteza de la raiz de *O monosperma* a la cual se le aislo diez isoflavonoides incluyendo dos nuevos compuestos de tipo isoflavona llamada ormosidin y dalbergion. Uno de los compuestos aislados mostro actividad moderada contra organismos

microbianos de la cavidad oral entre ellos *Streptococcus mutans*, *Prophyromonas gingivalis* y *Actinobacillus Actinomyces* (Linuma et al., 1994).

## II. DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

Como se observa en el cuadro XXIII, de las seis plantas seleccionadas para la evaluación de la actividad antimicótica sólo el extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose, presentó actividad contra dos de los cinco hongos evaluados.

**Cuadro XXIII.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS A LA DOSIS DE 1000 µg/mL.

Extracto	Halos de inhibición (mm)				
	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	<i>Criptococcus</i> <i>neoformans</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Candida</i> <i>albicans</i>
<i>Albizia adinocephala</i> (corteza)	12	7	0	0	0
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz (hojas)	0	0	0	0	0
<i>Diploptropis purpurea</i> (tallo)	0	0	0	0	0
<i>Machaerium</i> sp. (tallo)	0	0	0	0	0
<i>Macroptilium</i> <i>lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	0	0	0	0	0
<i>Ormosia coccinea</i> (raquis de infrutescencia)	0	0	0	0	0
Anfotericina B	28	14	18	19	26

mm = milímetros de inhibición

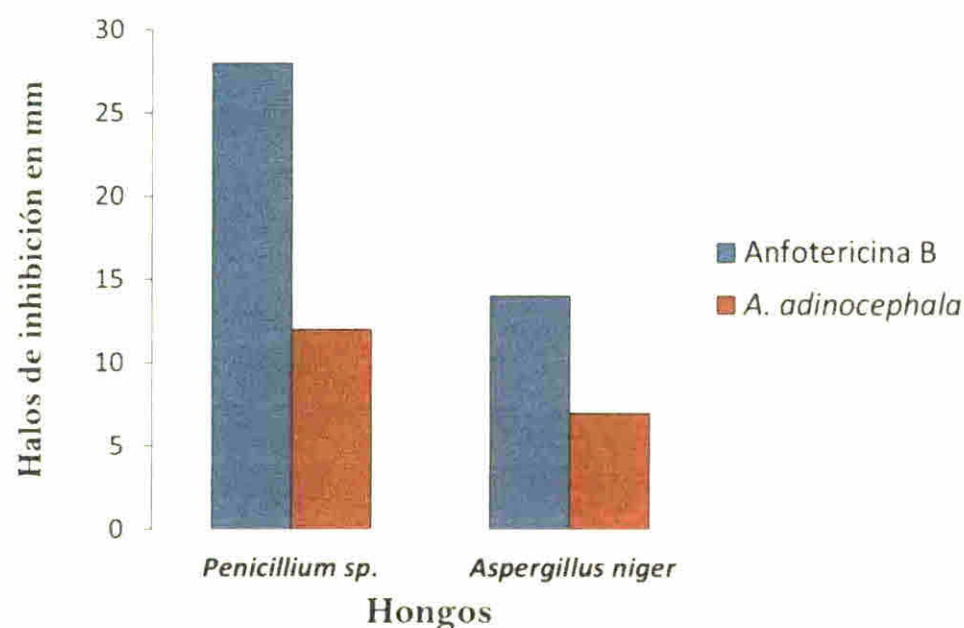
0 = No se encontró ningún halo de inhibición

En este ensayo se usó DMSO como control negativo

Los ensayos se realizaron con una n = 4

### A. *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)

Como se observa en la figura 27, a continuación el extracto metanólico obtenido de la corteza de *Albizia adinocephala* presentó actividad antimicótica frente a *Penicillium sp.* y a *Aspergillus niger*, con halos de inhibición de 12 mm y 7 mm respectivamente, comparada con el control positivo que se utilizó el cual fue anfotericina B, que presentó halos de inhibición de 28 mm para *Penicillium sp.* y 14 mm para *Aspergillus niger*.



**Fig. 27.** Gráfica de actividad antimicótica del extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala*

Con respecto a resultados de estudios de actividad antimicótica, para *A. adinocephala* no se han reportado evaluaciones de este tipo hasta el momento, pero si para otras especies del género *Albizia*, información que se resume en el cuadro XXIV.

De los estudios reportados en el cuadro anterior, podemos observar que existe un ensayo parecido al nuestro al encontrar que un extracto obtenido a partir de *A. schimperiana* inhibió el crecimiento de *A. fumigatus*, (Samoylenko *et al.*, 2009).

**Cuadro XXIV. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PARA DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Albizia***

Información de las plantas del género <i>Albizia</i>	Hongos evaluados	Resultados del estudio	Comentario	Referencia bibliográfica
<i>A. chinensis</i> extracto metanólico de las hojas	<i>C. albicans</i>	Los compuestos ensayados no mostraron actividad antifúngica	Aislaron flavonoides Solo reportan halos de inhibición en mm	Ghaly <i>et al.</i> , 2010.
<i>A. inundata</i> (hojas)	Antifungicida	Soló reporta actividad fungicida		Barboza <i>et al.</i> , 2009.
<i>A. schimperiana</i> Oliv, extracto metanólico acuoso y en extracto diclorometanólico	<i>C. neoformans</i> <i>A. fumigatus</i> .	Los compuestos 1 y 3 mostraron significativa actividad in vitro frente, <i>C. neoformans</i> , y <i>A. fumigatus</i> .	Identificación de un nuevo alcaloide macrocíclico tipo espermina	Samoylenko <i>et al.</i> , 2009
<i>A. adianthifolia</i> extracto de acetato de etilo, fracciones y compuestos aislados de la corteza del tallo	Evaluaron hongos: <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. neoformans</i>	Se mostró que el extracto crudo, fracciones F2-F5, mezclas de ácidos grasos B1 y B2, los compuestos 1 y 2 impedía el crecimiento de la mayoría de los microorganismos ensayados. La CIM obtenidas variaron de 0,006 a 6.25 mg/mL.	Triterpenos, saponinas y flavonoides Los valores de MIC fueron iguales o inferiores a nistatina mientras que <i>C. lusitaniae</i> y <i>C. neoformans</i> , mostró la mejor susceptibilidad. El extracto crudo fue menos eficaz	Tamokou <i>et al.</i> , 2012
<i>Albizia versicolor</i> Welw. Ex Oliv extracto metanólico de la corteza	<i>C. albicans</i> una con ATCC y cinco cepas aisladas de muestras clínicas	El extracto no presentó actividad	Utilizaron una concentración igual a la nuestras (1mg/mL)	Steenkamp <i>et al.</i> , 2007

Ademas en las referencias bibliograficas no se reportan ningun uso tradicional como antifungico para *A adinocephala* sin embargo para *A conara* planta del mismo genero se ha descrito ser usada para tratar los hongos internos (Focho *et al* 2009)

### **B *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz (hojas)**

Como se observa en un cuadro anterior (XXIII) el extracto metanolico de las hojas de *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz no presento actividad antimicotica frente a ninguno de los hongos evaluados Se puede senalar que en la literatura consultada no se encontro ningun estudio sobre actividad antimicotica pero si se reportan ensayos realizados en especies del mismo genero Es asi como uno de los estudios evalua dicha actividad usando la misma tecnica que nuestro estudio (formacion de pocillos en el agar) en extraccion metanolica acuosa ácido citrico diclorometano y de eter de petroleo de la corteza de *D melanoxylon* Los resultados reflejaron que la fraccion etanolica no fue significativamente activa contra hongos El extracto de diclorometano mostro una actividad notable contra hongos La fraccion de éter de petroleo no mostro actividad antimicrobiana (Gundidza *et al* 1993)

Ensayos en *D candenatensis* identificaron flavonoides que fueron evaluados frente a diferentes bacterias y hongos (Hamburger *et al* 1987) Hay otros estudios en *D melanoxylon* Guill & Perr donde se evaluan las cortezas en extraccion metanolica frente a diferentes cepas de *C albicans* sin encontrar ningun tipo actividad antimicotica (Steenkamp *et al* 2007)

Un dato importante es que el genero *Dalbergia* contiene propóleos sustancias que presentan actividad antifungica asociada generalmente a la presencia de terpenos acidos organicos y flavonoides que en estudios realizados han mostrado ser activos contra *C albicans* (Fernandez M 2007)

### **C *Diplotropis purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo)**

El extracto metanolico del tallo de *D purpurea* no resulto ser activo frente a ninguno de los hongos evaluados como se puede observar en el cuadro XXIII En la literatura consultada no hay referencias que indique que *D purpurea* posea actividad antimicótica Solo se encontro un estudio realizado en extraccion etanolica de la corteza de *D ferruginea* evaluado frente a *Candida albicans* (LM24) *Candida albicans* (LM514) *Candida albicans* (LM905) *Candida tropicales* (LM 057) *Candida krusei* (LM 905) *Geotrichum* sp (LM 515) *Tricophyton rubrum* (LM 50) *Tricophyton rubrum* (LM 02) *Tricophyton mentagrophytes* (LM 740) *Penicillium* (FCF 281) *Fusarium* (LM 003) *Aspergillus flavus* (LM 136) y *Fusarium* sp (LM 003) Resultados no publicados (Cerqueira et al 2011)

### **D *Machaerum* sp (tallo)**

Como se observa en el cuadro XXIII *Machaerum* sp (tallo) no mostró actividad antimicótica En la revisión bibliográfica no se encuentra estudios relacionados ya que solo se reporta actividad contra bacterias y parásitos (Diaz et al 2011 De Almeida et al 2000)

Para otras especies como *M multiflorum* se han encontrado biomoléculas como lo son machaeridiol A y machaeridiol B que mostraron actividad antifúngica contra *C albicans* con valor de la  $CI_{50}$  que va de 2.0 a 3.5  $\mu\text{g/mL}$  (Muhammad *et al* 2003)

#### **E *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (raíz)**

Como se observa anteriormente en el cuadro XXIII el extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban no mostró ser activa frente a ninguno de los cinco hongos evaluados a la dosis de 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Y al revisar la literatura no se encontraron evidencias de estudios antimicóticos que se hayan realizado ni para esta especie ni para este género de planta.

#### **F *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks raquis de infructescencia**

Como se observa en el cuadro XXIII el extracto metanólico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* no presentó actividad antimicótica contra ninguno de los hongos ensayados a la dosis de 1000  $\mu\text{g/mL}$ . No se encontraron reportes de actividad antimicótica en la bibliografía consultada ni para otras especies del género. Esto quizás se pueda deber a la toxicidad reportada para esta planta.



### III DE LA EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA (SCREENING HIPOCRATICO)

El metodo del Screening Hipocratico para la evaluacion farmacologica aplicado en nuestro estudio es de caracter inespecifico y busca hacer observaciones generales en cuanto a las posibles acciones centrales y perifericas de los extractos evaluados

#### A Evaluación farmacológica

En el cuadro XXV se reportan los resultados de la evaluación farmacologica y toxicológica realizada a los diferentes extractos metabolicos mediante la técnica del Screenin Hipocratico

##### 1 *Albizia adinocephala* (J D Sm ) Bntt & Rose (corteza)

En la evaluacion farmacologica del extracto metanolico de la corteza de *Albizia adinocephala* como se observa en el cuadro XXV sólo se observo un ligero aumento de la miccion a los 15 minutos en uno de los tres animales (33%) que aumento en dos de tres animales (66%) a los 30 minutos y se mantuvo hasta las dos horas de observacion. Ademas de presentar una ligera modificacion en consistencia de las heces a los 60 minutos en uno de los tres animales evaluados (33%). El extracto no presento efectos toxicos observables a la dosis de 1 000 mg/kg



**Cuadro XXV.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS METANÓLICOS ENSAYADOS A LA DOSIS DE 1000 mg/kg A TRAVÉS DEL SCREENING FARMACOLÓGICO.

Extractos metanólicos	Efectos	Medición de los efectos a los diferentes tiempos							Observaciones
		0 min.	15 min.	30 min.	60 min.	2 hrs.	6hrs.	24 hrs.	
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)	Micción	N	(+) 33% (1/3)	(+) 66% (2/3)	(+) 66% (2/3)	(+) 66% (2/3)	N	N	
	Heces blandas	A	A	A	(+) 33% (1/3)	A	A	A	
<i>Dalbergia brownii</i> (hojas)	Heces blandas	A	A	(+) 66% (2/3)	(+) 66% (2/3)	(+) 66% (2/3)	A	A	
<i>Diplotropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff (tallo)	Actividad motora	N	N	(-) 66% (2/3)	(-) 66% (2/3)	(-) 33% (1/3)	(-) 33% (1/3)	(-) 33% (1/3)	Es el mismo animal que presentó los efectos
	Analgesia	A	A	(+) 66% (2/3)	(++) 66% (2/3)	(++) 33% (1/3)	A	A	
	Heces blandas	(+) 33% (1/3)	Diarrea 33% (1/3)	Diarrea 33% (1/3)	A	A	A	A	
<i>Machaerium sp.</i> (tallo)	Analgesia	A	(+) 33% (1/3)	(++) 33% (1/3)	(++) 33% (1/3)	(+) 33% (1/3)	A	A	Hizo un chillido fuerte a las 6 hrs.
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	Micción	N	N	N	N	(+) 33% (1/3)	(+) 100% (3/3)	N	
<i>Ormosia coccinea</i> (raquis infructescencia)	Analgesia	A	(+) 33% (1/3)	(++) 33% (1/3)	(+++) 33% (1/3)	(+++) 33% (1/3)	(+) 33% (1/3)	A	
	Conducta agresiva	A	A	(+) 33% (1/3)	(++) 33% (1/3)	(+) 33% (1/3)	(+) 33% (1/3)	A	

Si bien es cierto para *Albizia adinocephala* no se han reportado estudios de toxicidad existe un estudio en otra especie como lo es *A. bernieri* (semillas) en extracción metanólica y n butanólica en la que se reportó una alta toxicidad en la planta dependiente de la dosis al ser evaluada mediante el modelo experimental de embrión de pez medaka (Randriamampianina et al/ 2012) Cabe mencionar que el modelo de embrión de pez se recomienda actualmente por los comités internacionales para estudios de toxicidad como método alternativo de animales en la evaluación de peligros riesgos y para la investigación científica

Por otro lado existen reportes para algunas especies de este género en varios países de África (Neuwinger 2004 En Randriamampianina 2012) En donde a las plantas *A. pennata* *A. anthelminthica* *A. conaria* *A. ferruginea* *A. gumifera* y *A. adianthifolia* se les ha atribuido toxicidad de tipo ictiotóxicas De igual forma *A. versicolor* fue la planta responsable de un brote de intoxicación en el ganado ovino y cabras en Malawi mostrando en los animales signos de intoxicación como hiperestesia galopeo movimientos rápidos de piernas nistagmo y parpadeo rápido (Soldan 1996 En Randriamampianina 2012)

## **2 *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz (hojas)**

Al realizar la evaluaciones farmacológicas mediante la técnica de Screening Hipocrático al extracto metanólico obtenido a partir de las hojas de *Dalbergia brownii* no se encontró alguna actividad farmacológica

considerable como se observa en el cuadro XXV. Solo se observó una leve modificación en la consistencia de las heces a los 30 minutos en dos de los tres animales (66%). Los cuales presentaron heces blandas, el efecto se mantuvo hasta las dos horas en el mismo porcentaje de animales.

Durante el ensayo no observaron efectos tóxicos. Y al término del mismo se obtuvo la sobrevivencia de todos los animales.

Cabe mencionar que para especies pertenecientes al género *Dalbergia* no se encontraron estudios que reporten actividad farmacológica o toxicológica.

### **3 *Diploptropis purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo)**

Como se observa en el anterior cuadro (XXV) el extracto metanólico del tallo de *Diploptropis purpurea* presentó una disminución de la actividad motora que se evidenció a partir de los 30 minutos en dos de los tres animales (66%) efecto que se mantuvo hasta las 24 horas en uno de los tres animales (33%).

Otro efecto que se observó en la evaluación farmacológica del extracto fue la analgesia que se comenzó al observar a los 30 minutos en dos de tres animales (66%). Este efecto aumentó a los 60 minutos en dos de los tres animales (66%) observándose a las 2 horas la mayor intensidad del efecto en uno de los tres animales (33%) y desapareciendo a las 6 horas.

También se observó que uno de los animales (33%) al inicio del ensayo presentaba heces blandas que se convirtió en diarrea a los 15 y 30 minutos. Pero a los 60 minutos después de la administración del extracto la diarrea

desaparecio Por lo que pudieramos pensar que el extracto presenta efectos antidiarreicos

Durante la realizacion del ensayo el extracto metanolico obtenido a partir del tallo de *Diploptropis purpurea* (Rich ) Amshoff no ocasiono efectos toxicos ni muerte en los animales a la dosis de 1 000 mg/kg

Es importante resaltar que para *Diploptropis purpurea* no se reportan estudios que reflejen actividades farmacologicas o toxicologicas relacionadas con este tipo de ensayo Sin embargo estudios realizados en la corteza del tallo de *Diploptropis ferruginea* Benth en extraccion etanolica se aislo un nuevo flavonoide tipo furanoflavan llamado diploptropin a partir de *Diploptropis purpurea* el cual esta relacionado con la accion farmacologica tipo espasmolitica presentada sobre el musculo liso intestinal de cobaya El mecanismo de accion se relaciona con la inhibición de la entrada de calcio y / o la liberacion de calcio desde almacenos intracelulares (Lima *et al* 2005)

#### **4 *Machaerum* sp (tallo)**

El extracto metanolico obtenido a partir del tallo de *Machaerum* sp al realizar la evaluacion farmacologica como se observa en el cuadro XXV Produjo en los animales una apreciable analgesia a los 15 minutos en uno de los tres animales (33%) El efecto analgesico se intensifico a los 30 y 60 minutos manteniendo el mismo porcentaje de animales el efecto disminuyo a las 2 horas y desaparecio a las 6 horas Efecto que ya habia sido descrito en especies del genero *Machaerum* (Ignoato *et al* 2012 Khalid *et al* 2010) El

extracto no presento ningun efecto de toxicidad a la dosis aguda ensayada de 1000 mg/kg. Además de obtener el 100% de sobrevivencia de los animales usados en el ensayo.

Es importante resaltar que para el género *Machaenum* no se reportan estudios de actividad farmacológica o toxicológica evaluada a través de un screening farmacológico.

#### **5 *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (raíz)**

Durante la evaluación farmacológica, el extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban solo presentó un ligero aumento en la micción a las dos horas de evaluación en uno de los tres animales (33%) que se mantuvo hasta las seis horas de evaluación. Dato reportado en el cuadro XXV.

El extracto no presentó efectos tóxicos al administrar la dosis de 1000 mg/kg. Además de no morir ninguno de los animales usados durante el ensayo. Cabe mencionar que en la bibliografía revisada no existen reportes de evaluación farmacológica o toxicológica a través del Screenin Hipocrático para *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban ni para otras especies del género.

#### **6 *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks (raquis de infructescencia)**

En cuadro XXV se reportan los resultados de la evaluación farmacológica del extracto metanólico del raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea*. En donde se observó analgesia a los 15 minutos en uno

de los tres animales (33%) El efecto analgesico se intensifico a partir de los 30 minutos en uno de los tres animales (33%) Y el efecto maximo se obtuvo a la hora y a las 2 horas en el mismo porcentaje de animales y disminuyo a las 6 horas Cabe mencionar que para *O. coccinea* Jacks y *O. dasycarpa* Jacks han encontrado acciones de tipo analgesicas ya que se les han identificado dos alcaloides ormosine y ormosinine los cuales presentan dicha accion (Hassal *et al* 1964)

Ademas se observo conducta agresiva en uno de los animales (33%) a los 30 minutos presentando la maxima intensidad del efecto a los 60 minutos La conducta agresiva de los animales se evidencio hasta las 6 horas en uno de los tres animales (33%)

Es importante resaltar que para *Ormosia coccinea* no existen reportes de actividad farmacologica y toxicologica evaluada mediante la tecnica de screening farmacologico Pero para otras especies del genero *Ormosia* si existen estudios de actividad farmacologica En donde reportan la presencia de un alcaloide oxypanamine policiclico obtenido del fruto de *Ormosia panamensis* el cual presenta multiples acciones farmacologicas En los perros produce reduccion prolongada de la presion arterial sistemica la presion arterial pulmonar elevada broncoconstriccion aumento de hematocrito eritema cutaneo y urticaria efectos que se derivan despues de un periodo latente de 30 a 120 segundos despues de la administracion intravenosa Bloqueo neuromuscular en perros y pollos similares a los causados por la d tubocurarina En perros produce piloereccion sedacion

#### IV. DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los polifenoles, dentro de los cuales se encuentran los flavonoides, son uno de los compuestos secundarios más importantes de las plantas, responsables de la actividad antioxidante.

La actividad antioxidante de los polifenoles, se cree que es debida principalmente a sus propiedades redox, ya que estos compuestos desempeñan un papel importante en la adsorción y neutralización de radicales libres, oxígeno singlete, oxígeno triplete y en la descomposición de peróxidos (Adedapo *et al.*, 2008).

A continuación se presentan los resultados y la discusión tanto de la determinación de posibles compuestos de tipo flavonoides por CCF, como de la actividad antioxidante evaluada por medio de un ensayo autobiográfico utilizando DPPH como revelador y por el porcentaje de inhibición frente a DPPH de los extractos metanólicos seleccionados de las 6 plantas estudiadas.

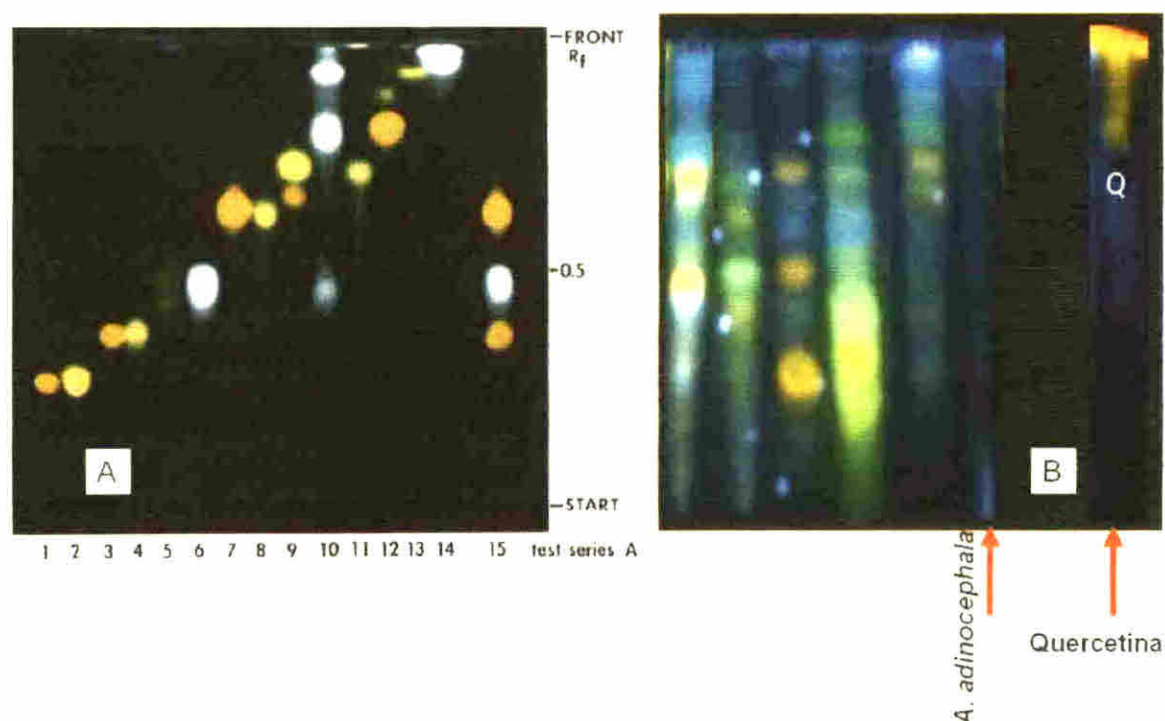
##### **A. *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)**

Como se observa a continuación en el cromatograma de la figura 28 y en el cuadro XXVI el extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose, no presentó ninguna mancha mediante la técnica de CCF, lo que indica la ausencia de metabolitos secundarios con estructura química de origen flavonoide.



leve, ataxia y la potenciación de la anestesia con barbitúricos. Sin embargo, ninguna sedación o la potenciación con hexobarbital se observó en ratas. (Moran *et al.*, 1959).

Aunque en nuestro ensayo no se observó efectos tóxicos ni muerte en los animales ensayados a la dosis 1000 mg/kg, existen reportes de efectos tóxicos para otras especies diferentes a *O. coccinea*. En donde se ha encontrado la dosis letal cincuenta en ratones albinos para las semillas de *O. macrocalyx* Ducke Huairuro en extracción etanólica, recomendando lo siguiente: Debido a la toxicidad de estas semillas, deberían controlar su modo de expedición comercial y proveer información de las mismas a la población expuesta. (Li *et al.*, 1993), esto explica porque esta planta sólo se usa para hacer adornos y joyas.



**Fig. 28.** **A.** Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. **B.** Cromatograma del extracto metanólico de la raíz de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza).

**Cuadro XXVI.** RESULTADOS DE CCF DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose (CORTEZA).

Extracto metanólico	Color y número de las manchas observadas				Total de manchas
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)	0	0	0	0	0
Quercetina	0	1	0	0	1

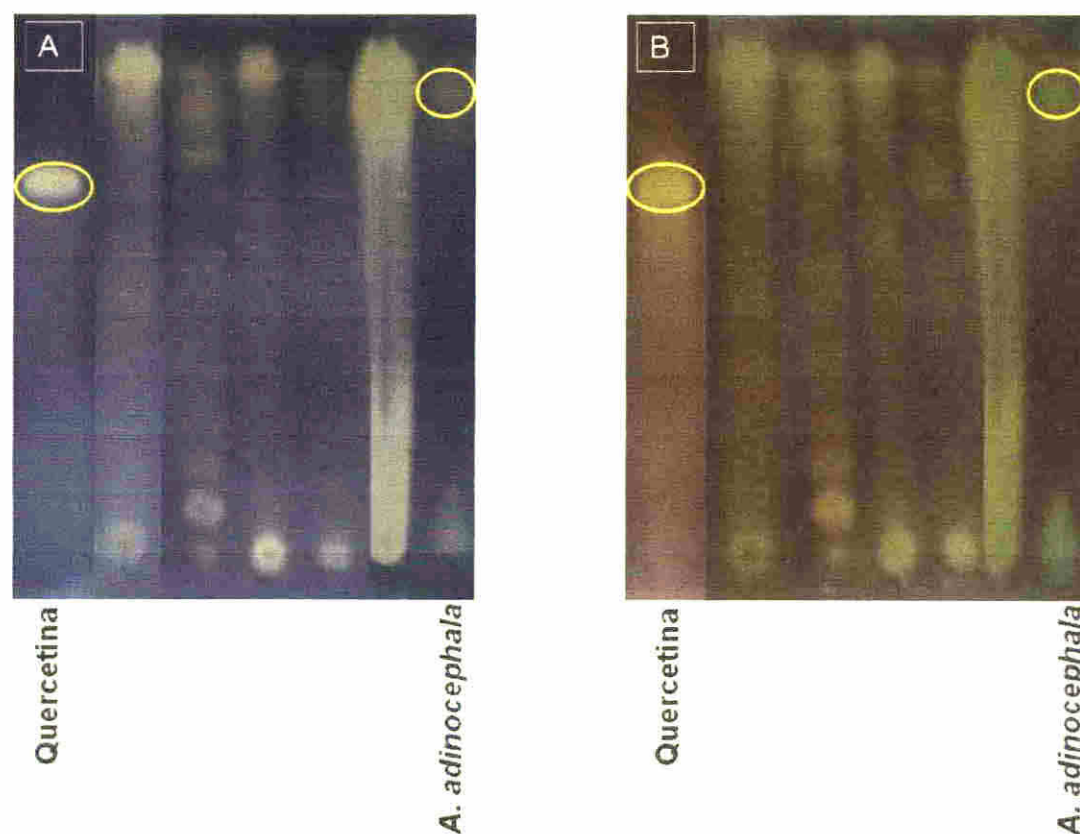
Si bien en el extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose no se identificaron flavonoides por el método de CCF, en otras especies de *Albizia* se han identificado sustancias con estructuras parecidas a la quercetina, como es el caso, de los extractos metanólicos de

las hojas de *A chinensis* (Ghaly *et al* 2010) y del follaje de *A julibrinssin* esta ultima mediante cromatografia liquida rapida de alto rendimiento (Laua *et al* 2007)

Es importante resaltar que existen estudios que indican una correlacion positiva entre la extraccion metanolica, el contenido de los fenoles totales y la actividad antioxidante (Noumessing *et al* 2009) parte de lo cual fue evidenciado por Rajkumar *et al* en 2012 quienes senalaron que en el extracto metanolico *A amara* se encuentran la mayor cantidad de polifenoles

Sin embargo el hecho de que en este ensayo no se hayan identificado flavonoides no indica que la planta no pueda contener compuestos secundarios de naturaleza flavonoide Ya que la identificacion de dichos compuestos contenidos en una planta dependera de la parte de la planta seleccionada y del tipo de extraccion utilizada

En cuanto a la actividad antioxidante evaluada mediante un ensayo autobiografico utilizando DPPH como revelador se evidencio la presencia de una mancha de color amarillo a una intensidad de dos cruces a los 300 minutos pero no se presento a la misma altura que el control como se observa en la figura 29 y en el cuadro XXVII



**Fig. 29.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0,5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para *Albizia adinocephala* a diferentes tiempos. **A.** Lectura a los 30 minutos. **B.** Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XXVII.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS PARA *Albizia adinocephala*.

Extractos metanólicos	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)	+	++
<b>Control</b>		
Quercetina	++	+++

Esta leve actividad antioxidante identificada en el extracto se confirmó con los resultados obtenidos al evaluar el porcentaje de inhibición ante el radical DPPH. Como se observa en la figura 30 y en el cuadro XXXIII, la planta necesitó una concentración de 5 000 µg/mL para obtener el máximo porcentaje de inhibición (95,815%) de DPPH. Por lo tanto la  $CE_{50}$  fue de 890 µg/mL. Indicando así que el extracto requiere una  $CE_{50}$  alta para alcanzar el 50% de inhibición. Cabe mencionar que al comparar la actividad antioxidante del extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose con los controles, se encontró que si existe una diferencia estadísticamente significativa con quercetina pero no con ácido clorogénico. Evidenciando que el extracto tiene un comportamiento antioxidante parecido al ácido clorogénico.

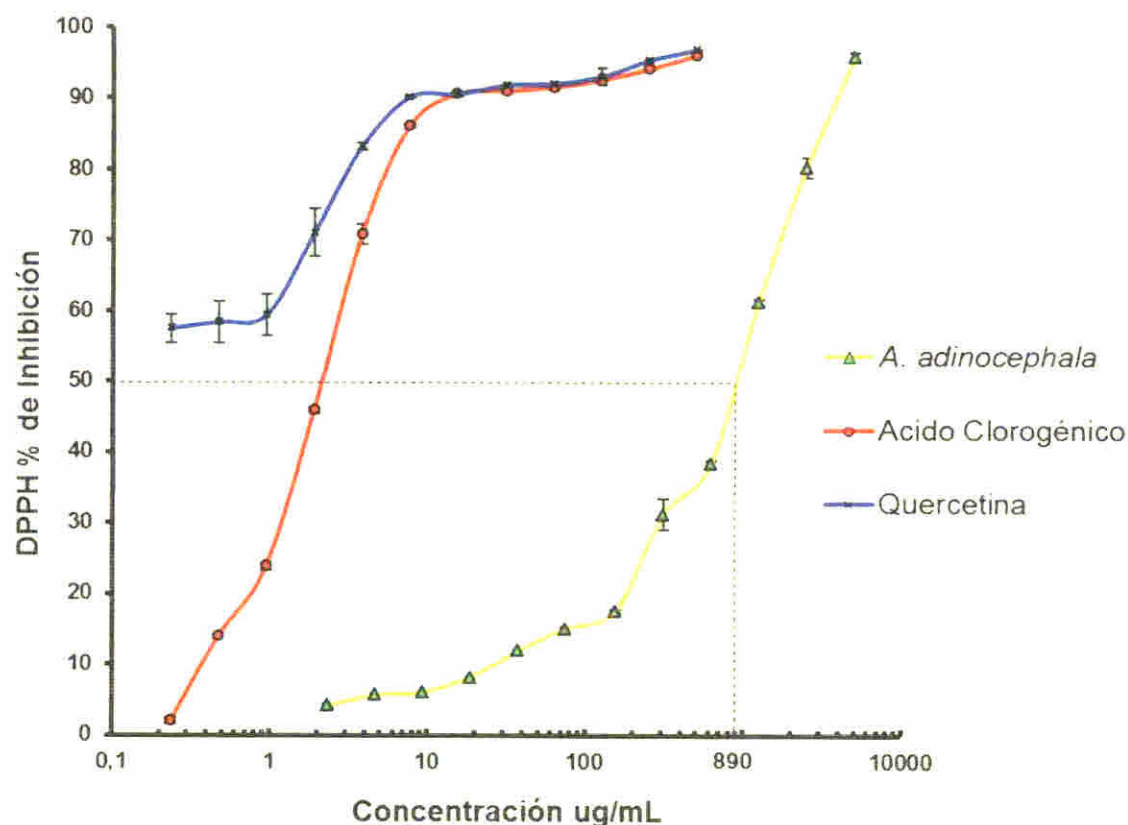
**Cuadro XXVIII.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH PARA *Albizia adinocephala*.

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	$CE_{50}$ (µg/mL)
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose	Corteza	95,815 **	5 000	890
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----

$CE_{50}$  = Concentración efectiva cincuenta

DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo

Significación estadística: \*\*  $P < 0,01$  Vs quercetina



**Fig. 30.** Actividad atrapadora de radicales libres de la corteza de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza).

Estos resultados nos podrían indicar que como la corteza de *A. adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose no presentó flavonoides, la actividad antioxidante por el método de DPPH presentado por el extracto es poco considerable.

Luego de la revisión bibliográfica, no se encontraron estudios que describan la actividad antioxidante de la *Albizia adinocephala*; sin embargo, existen estudios de actividad antioxidante realizados a otras especies del género *Albizia*, como se explica a continuación:



En *A. chinensis* indican la efectividad antioxidante del flavonoide tipo quercetina aislado a partir de dicha planta el cual fue encapsulado en nanoparticulas de poli D L lactida mediante el metodo de evaporacion de disolvente para mejorar la solubilidad permeabilidad y la estabilidad de esta molecula Concluyendo lo siguiente las propiedades de la nanomedicina con quercetina proporcionar un nuevo potencial para el uso de dicha molecula antioxidante util en el desarrollo de una mejor actividad terapeutica con efecto antiinflamatorio y nutraceutico (Kumaria *et al* 2011)

El estudio realizado en las fracciones de la corteza del tallo de *A. adianthifolia* en extraccion de acetato de etilo el cual relacionan la actividad antioxidante con la cantidad de fenoles expresados como equivalentes de acido galico presentes en esta planta (Tamokou *et al* 2012)

En *A. lebbek* encontraron un contenido fenolico igual a 66.23 mg de equivalentes de acido galico (Sulaiman *et al* 2012)

El realizado en el extracto etanolico de *A. mynophylla* Cha Em Tailandes en donde el extracto de la planta mostro la mayor actividad antioxidante en el ensayo de DPPH con una CE<sub>50</sub> igual 14.45 µg/ mL (Steinrut *et al* 2011)

Basados en las practicas tradicionales de Cameroon *Albizia sp* se usa para disminuir los niveles de azucar en la sangre Por lo tanto realizaron evaluaciones antioxidantes de la misma en diferentes tipos de medios de



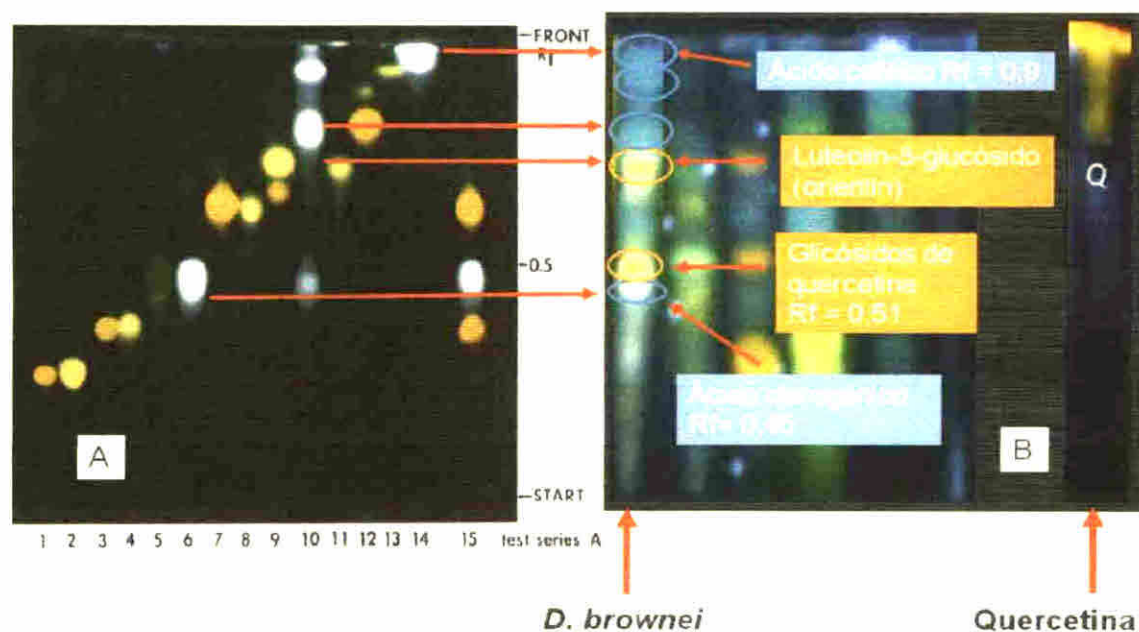
extraccion acuosa etanolica hidroetanolica y metanolica a la concentracion de 1000 µg/mL. Los investigadores de este estudio reportaron solo un 37.72% de inhibicion de DPPH para la planta siendo esta una actividad poco considerable. Otros resultados importantes de este estudio revelaron que la presencia de flavonoides, saponinas y glucosidos varian de acuerdo al medio de extraccion que se utilice. De tal manera que se pudo evidenciar que *Albizia sp.* en extraccion hidroetanolica y acuosa se encontro menos cantidad de flavonoides, saponinas y glucosidos (Noumessing *et al.* 2009).

El realizado en el extracto metanolico del follaje de *A. julibrissin* en donde la planta mostro actividad antioxidante de un 40% mediante la capacidad de absorbancia de radicales de oxigeno mediante cromatografia liquida de alto rendimiento (Laua *et al.* 2007).

#### **B *Dalbergia brownii* (Jacq.) Schinz (hojas)**

Como se observa en la figura 31 el extracto metanolico de las hojas de *Dalbergia brownii* presento seis manchas en el cromatograma las cuales corresponden a la presencia de flavonoides de manera preliminar.

En el cuadro XXIX se reportan los valores de los  $R_f$  para las seis manchas identificadas: las dos naranjas y las cuatro azul claro. Además se mencionan las posibles estructuras a las cuales se pudiera parecer según la referencia utilizada (Wagner *et al.* 2003).



**Fig. 31.** A. Cromatograma de referencia para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. B. Cromatograma del extracto metanólico de la raíz de *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz (hojas).

**Cuadro XXIX.** RESULTADOS DE CCF DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz (HOJAS).

Extracto metanólico	Colores y Rf de las manchas observadas	Estructuras químicas según la emisión del color de la fluorescencia de la mancha	Compuestos a los que se pudiera parecer según los cromatogramas de referencia (Wagner <i>et al.</i> , 2003)
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz (hojas)	Rf <sub>1</sub> =0,51	Flavonas y flavonoles	Glicósidos de quercetina
	Rf <sub>2</sub> =0,67	Flavonas y flavonoles	Luteolin-8-glucósido (orientin) Isoramnetin-3-O- glucósido (con isoquercetin)
	Rf <sub>1</sub> =0,46	Pueden contener ácidos carboxílicos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogénico) y cumarinas (escopolotina)	Ácido clorogénico (Rf= 0,45)
	Rf <sub>2</sub> =0,75	Pueden contener ácidos carboxílicos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogénico) y cumarinas (escopolotina)	No se encontró coincidencia
	Rf <sub>3</sub> =0,87	Pueden contener ácidos carboxílicos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogénico) y cumarinas (escopolotina)	No se encontró coincidencia
	Rf <sub>4</sub> =0,92		Ácido caféico (Rf = 0,9)

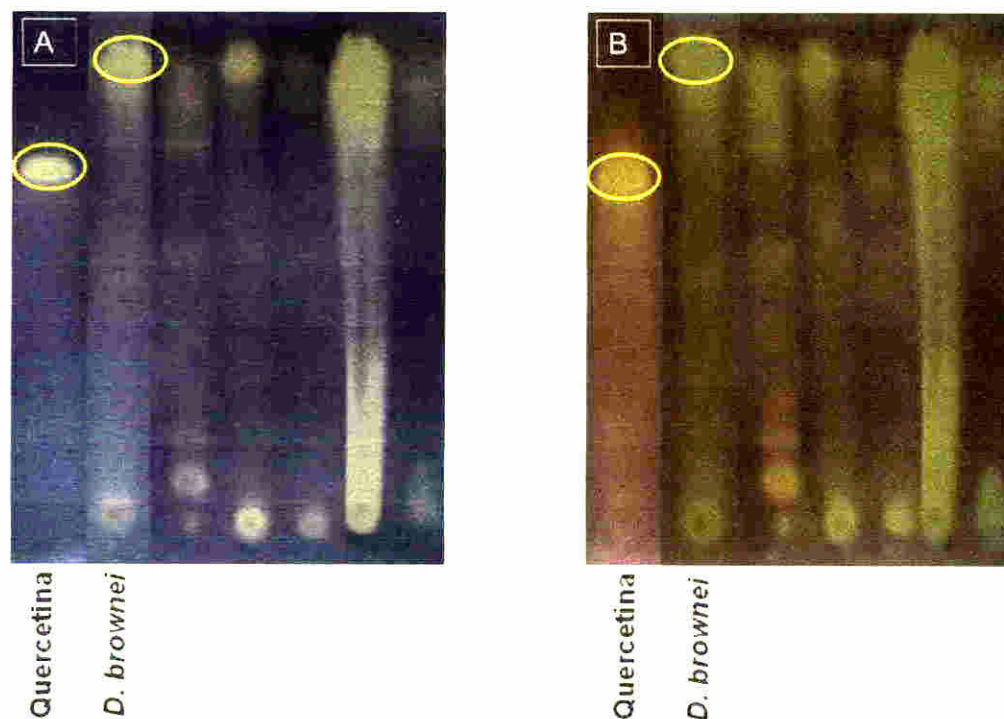
De tal manera que en la identificación de flavonoides para el extracto metanólico de las hojas de *Dalbergia brownii* (Jacq.) Schinz una de las dos manchas de color naranja parece tener una estructura semejante al ácido clorogénico además de que el valor del  $R_f$  obtenido para esa mancha (0.46) es muy parecido al reportado en la bibliografía usada como referencia (0.45) para esa sustancia (Wagner *et al.* 2003). De igual forma una de las manchas de color celeste claro con un  $R_f$  igual a 0.96 coincide con el ácido cafeico con el valor de  $R_f$  muy semejante (0.9) al observado en el cromatograma de referencia (figura 29). Además de contener otros tipos de flavonoides con estructuras diferentes las cuales no se pudieron relacionar con otras estructuras conocidas.

Es importante que no existen estudios en donde se evalúe la presencia de flavonoides para el extracto de la planta *Dalbergia brownii* ni para sus hojas por tanto por primera vez se ha identificado la presencia de compuestos de tipo flavonoide específicamente en el extracto metanólico de las hojas de *Dalbergia brownii* ya que anteriormente solo existe un estudio en donde evaluaron la presencia de alcaloides y glucosidos para esta especie (Coe *et al.* 1996b).

Estos resultados parecen indicar que este género es fuente importante de polifenoles ya que en otra especie como lo es *D. candanensis* se han identificado cinco isoflavonoides incluyendo la quinona isoflavona (Hamburger *et al.* 1987) y más recientemente mediante extracción con

diclorometano, se aislaron otros seis nuevos compuestos de tipo fenólico de esta misma especie (Cheenpracha *et al.*, 2009).

Al evaluar la acción antioxidante del extracto metanólico obtenido a partir de las hojas de *Dalbergia browniei*, por CCF con DPPH. En el cromatograma de la figura 32 se detectó la presencia de manchas de color amarillo parecidas al control, identificadas por dos cruces a los 300 minutos como se evidencia en el cuadro XXX.



**Fig. 32.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0.5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para *Dalbergia browniei* a diferentes tiempos. **A.** Lectura a los 30 minutos. **B.** Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XXX.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS PARA *Dalbergia brownei*.

Extractos metanólicos	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz (hojas)	++	++
<b>Control</b>		
Quercetina	++	+++

En cuanto a la actividad antioxidante como se puede observar en el cuadro XXXI y en la figura 33 se cuantificó a través de la capacidad atrapadora del radical DPPH. En donde el extracto a la concentración de 2 500 µg/mL, alcanzó el 96,426% de actividad inhibitoria del radical libre y por lo tanto la CE<sub>50</sub> fue de 35 µg/mL. Indicando así que el extracto requiere una CE<sub>50</sub> baja para alcanzar el 50% de inhibición. A la hora de comparar el extracto metanólico de *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz (hojas) con los controles quercetina y ácido clorogénico no se encontró diferencia estadísticamente significativa. Cabe mencionar que el porcentaje de inhibición obtenido con el extracto fue muy parecido al obtenido con el control quercetina (96,823 %), lo que nos dice que el extracto posee buena actividad antioxidante.

Es importante resaltar que para *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz no existen estudios que reporten evaluación de la actividad antioxidante. Pero si existen reportes de estudios para otras especies como el realizado en *D. candenatensis* en donde se reporta actividad antioxidante (Hamburger *et al.*,

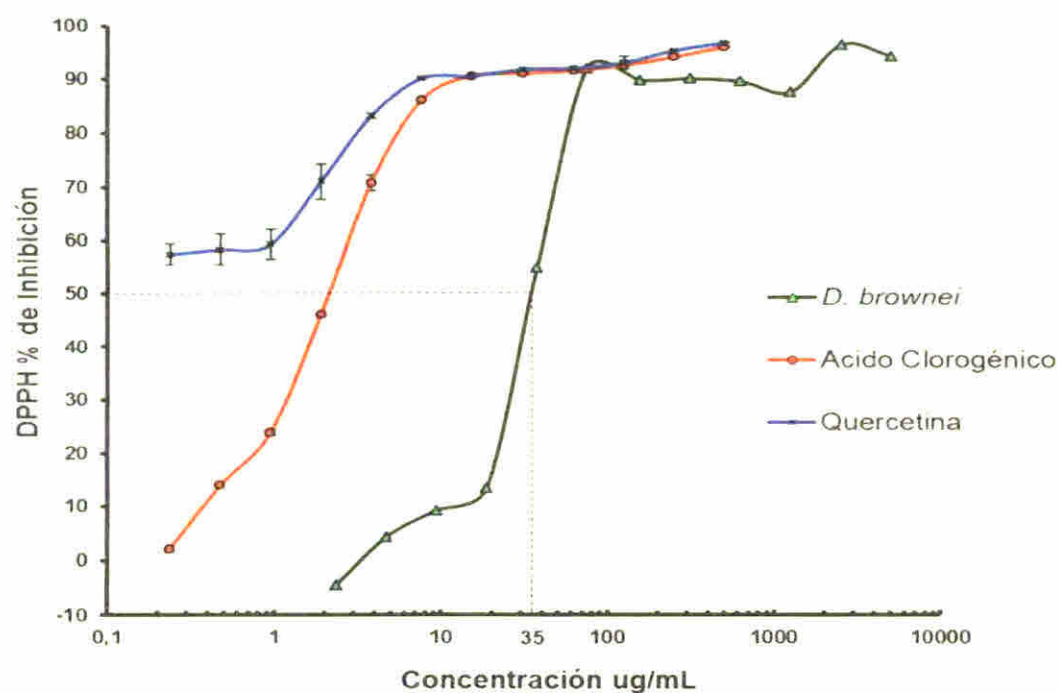


1987). Así también para las hojas de *D. paniculada* en extracción metanólica, la actividad antioxidante se evaluó frente al radical superóxido, hidroxilo y captación de DPPH. En donde el extracto produjo inhibición dependiente de la dosis de los radicales antes mencionados (Ganga *et al.*, 2012).

**Cuadro XXXI.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH PARA *Dalbergia brownei*.

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Dalbergia brownei</i>	Hoja	96,426	2 500	35
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----

CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva cincuenta  
DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo



**Fig. 33.** Actividad atrapadora de radicales libres de las hojas de *Dalbergia brownei* (Jacq ) Schinz (hojas).

Es posible que de acuerdo a la actividad antioxidante determinada en el extracto metanolico de las hojas de *Dalbergia brownii* este posea actividad antiinflamatoria efecto que ha sido descrito en *D. paniculata* en extraccion metanolica (Ganga *et al* 2012) Y el realizado para la corteza de *D. lanceolata* en extraccion etanolica (Kale *et al* 2007) ya que la inflamacion se relaciona con el estres oxidativo

Otro dato a considerar es el reportado en la literatura el cual informa que los propoleos que estan contenidos en este tipo de las plantas poseen fuerte actividad antioxidante la cual esta relacionada fundamentalmente con la presencia de flavonoides (Fernández M 2007)

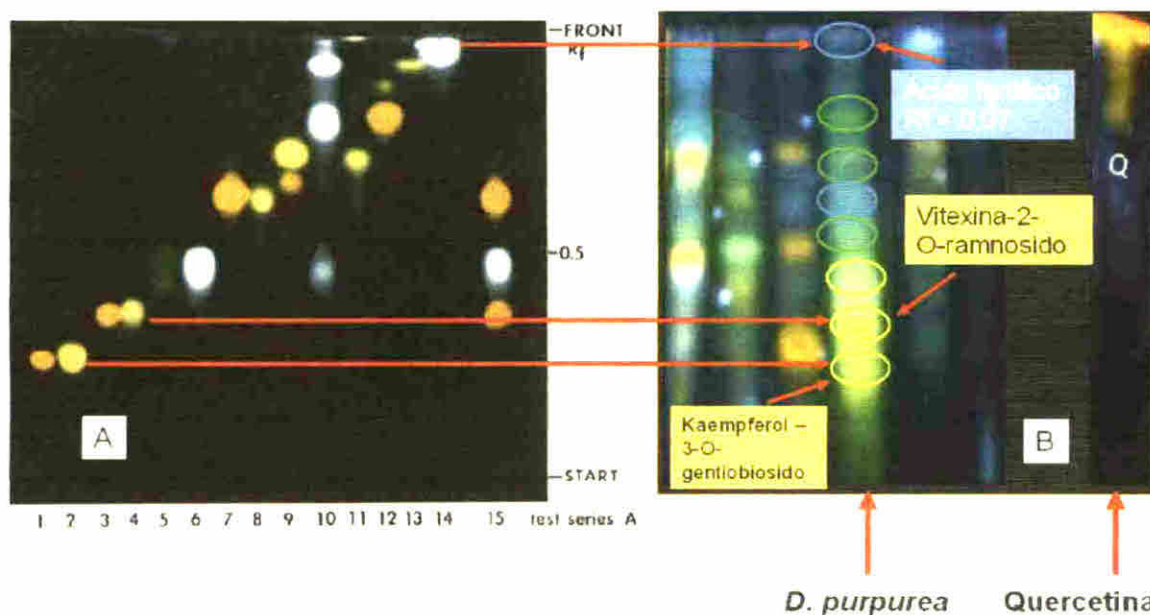
### **C *Diploptropis purpurea* (Rich ) Amshoff (tallos)**

En la figura 34 y el cuadro XXXII aparecen los resultados de la CCF del extracto metanolico del tallo de *Diploptropis purpurea* (Rich ) Amshoff en el cual se observaron ocho manchas indicando que en el extracto se encuentran diferentes tipos de flavonoides con estructuras variadas Estas manchas de acuerdo al cromatograma control podrian ser flavonas flavonoles flavononas y otras estructuras quimicas que pueden contener acidos carboxilicos fenolicos

Una de las manchas amarillas con Rf de 0.27 pudiera tener una estructura parecida a kaempferol 3 O-gentiobiosido y una segunda mancha amarilla con un Rf igual 0.34 es similar a la vitexina 2 O ramnosido ademas



se puede observar una mancha de color azul claro con un  $R_f$  de 0,96 similar a la que presenta el ácido ferúlico con un  $R_f$  de 0,97.

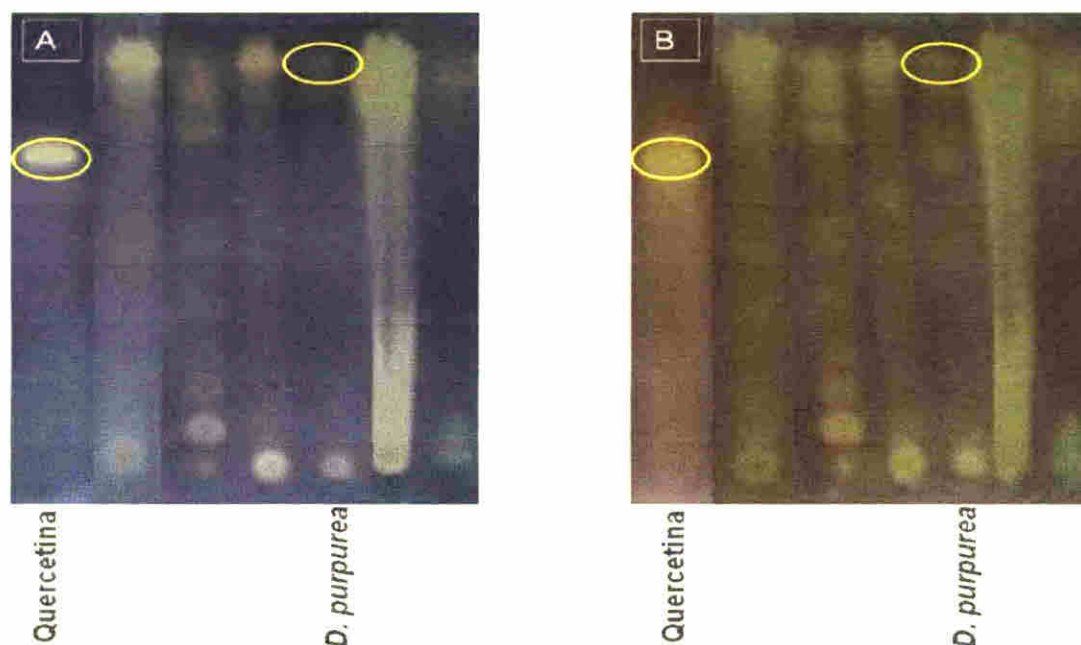


**Fig. 34.** A. Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. B. Cromatograma del extracto metanólico de la raíz de *Diplotropis purpurea* (Rich.) Amshoff (tallo).

**Cuadro XXXII.** RESULTADOS DE CCF DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Diplotropis purpurea* (Rich) Amshoff (TALLO).

Extracto metanólico	Colores y $R_f$ de las manchas observadas	Estructuras químicas según la emisión del color de la fluorescencia de la mancha	Compuestos a los que se pudiera parecer según los cromatogramas de referencia (Wagner <i>et al.</i> , 2003)
<i>Diplotropis purpurea</i> (Rich) Amshoff (tallo)	$R_{f1}=0,27$	Flavonas y flavonoles	Kaempferol -3-O-gentiobiosido
	$R_{f2}=0,34$	Flavonas y flavonoles	Vitexina-2-O-ramnosido
	$R_{f3}=0,42$	Flavonas y flavonoles	
	$R_{f1}=0,53$	Flavononas	No se encontró coincidencia
	$R_{f2}=0,70$		
	$R_{f3}=0,77$		
	$R_{f1}=0,65$	Pueden contener ácidos carboxílicos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogénico) y cumarinas (escopolotina)	Ácido ferúlico $R_f = 0,97$
	$R_{f2}=0,96$		

En el ensayo autobiográfico de actividad antioxidante utilizando DPPH, el extracto presentó una leve intensidad de la mancha identificada con una cruz, comparado con quercetina, como se evidencia en el cromatograma de la figura 35 y en el cuadro XXXIII.



**Fig. 35.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0,5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para *Diplotropis purpurea* a diferentes tiempos. A. Lectura a los 30 minutos. B. Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XXXIII.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS PARA *Diplotropis purpurea*.

Extractos metanólicos	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Diplotropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff (tallo)	+	+
<b>Control</b>		
Quercetina	++	+++

Al evaluar la capacidad atrapadora del radical DPPH, el extracto metanólico *Diploptropis purpurea* (Rich) Amshoff (tallo) alcanzó un 95,772 % de inhibición a la concentración de 5 000  $\mu\text{g/mL}$ , con una  $\text{CE}_{50}$  baja, de 37  $\mu\text{g/mL}$ , como se observa en la figura 36 y en el cuadro XXXIV. Indicando así que el extracto alcanzó el 50% a sólo 37  $\mu\text{g/mL}$ . No hubo diferencia significativa al comparar el extracto con los controles quercetina y ácido clorogénico. De tal forma que su comportamiento antioxidante es similar a los controles.

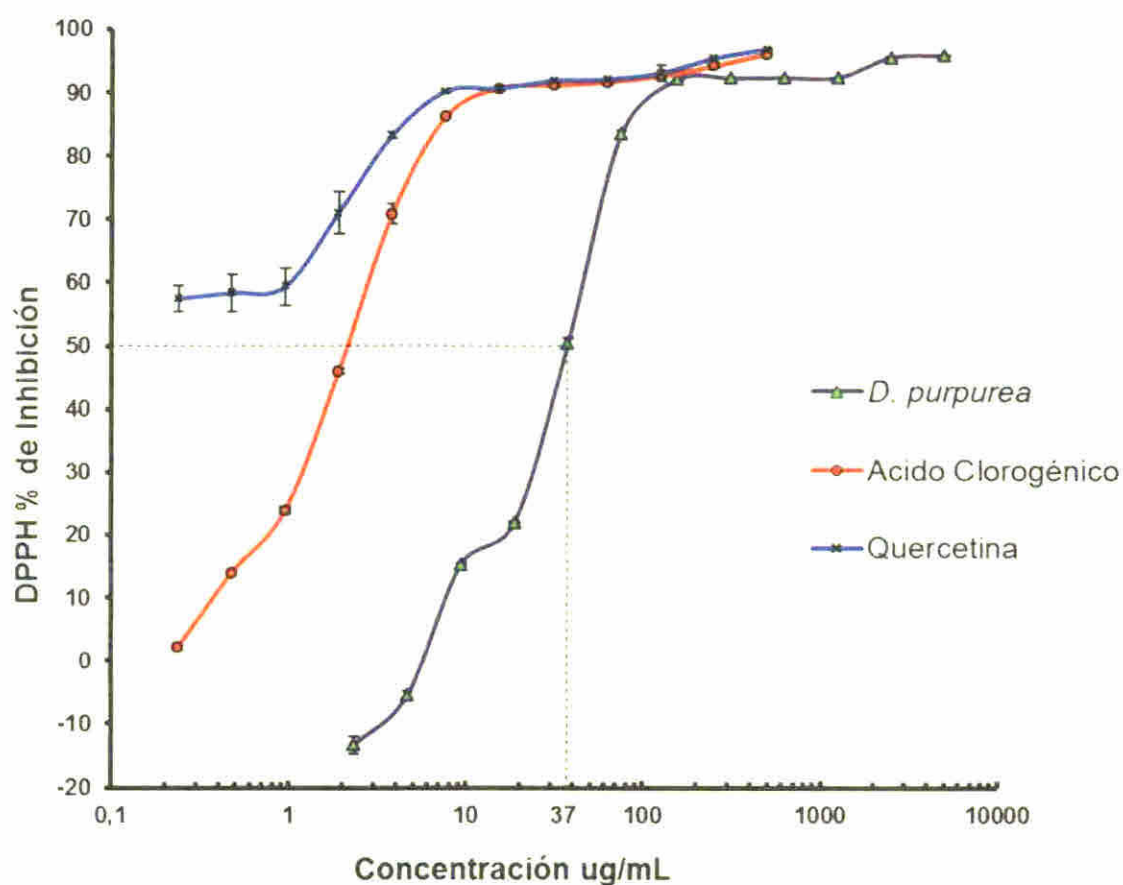


Fig. 36. Actividad atrapadora de radicales libres del tallo de *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff (tallo).

**Cuadro XXXIV.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH PARA *Diploptropis purpurea*.

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Diploptropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff	Tallo	95,772	5 000	37
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----

CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva cincuenta  
DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo

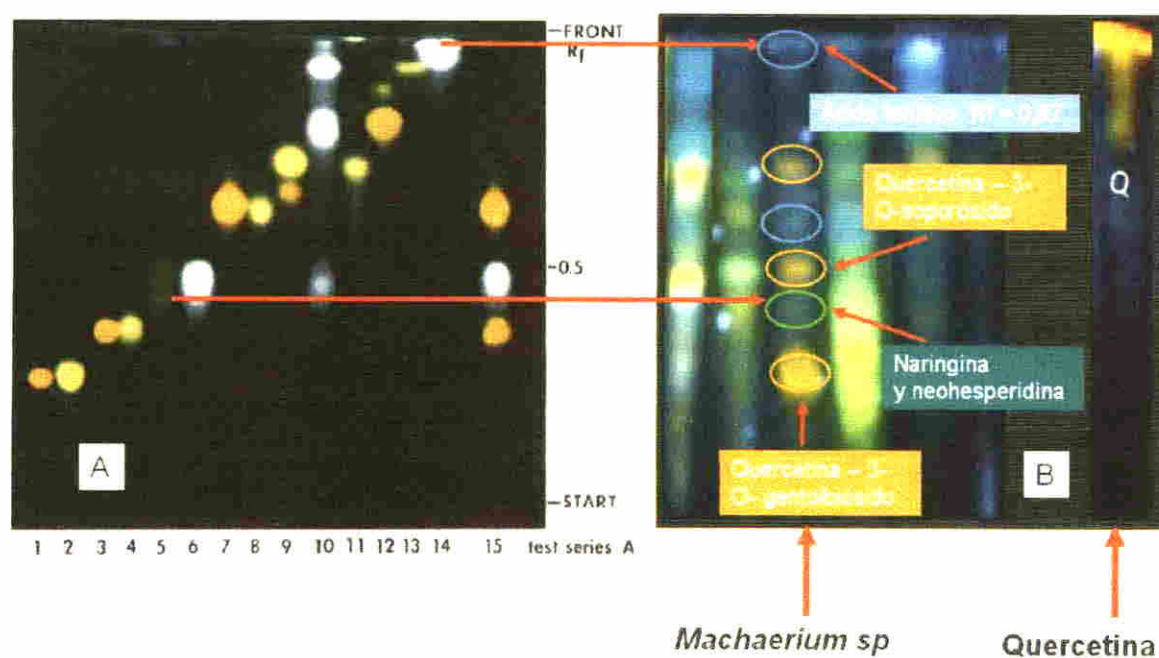
Para *Diploptropis purpurea* hasta el momento, en la bibliografía revisada no existen estudios que reporten actividad antioxidante. Solamente existen varios estudios realizados *D. ferruginea* Benth. la cual es usada en la medicina tradicional de Brasil para el tratamiento de la artritis, el reumatismo y la diabetes. En extracción metanólica, a dicha planta se la han identificado compuestos de tipo triterpeno, mostrando un % de inhibición de DPPH para el compuesto 1 de 59% a la concentración de 30 µg/mL y para el compuesto 2 un 55% a la misma concentración (Pereira *et al.*, 2007). También se ha reportado para esta misma planta usos en inflamaciones, úlceras externas y vaginales (Agrá *et al.*, 2007). Además se le han identificado flavonoides nuevos (3-metoxiflavona, 3-metoxi-6-O-prenil-6", 6"-dimetilchromona-(7,8,2", 3")-flavona, a la cual se le dio el nombre trivial diploflavona (1), así como el conocido 3,6-dimetoxi-6 "6", - dimetilchromona-(7,8,2", 3")-flavona (2) (Almeida *et al.*, 2005).



#### D. *Machaerium sp.* (tallo)

Como se observa en los resultados obtenidos de la CCF, en la figura 37, el extracto metanólico del tallo de *Machaerium sp.*, presentó 6 manchas.

De acuerdo a su coloración (cuadro XXXV), las 3 manchas de color naranja, presentarían estructuras tipo flavonas y flavonoles, siendo una de estas la de Rf 0,31 similar a quercetina – 3- O- gentoibiócido y la quercetina – 3- O-soporósido, mientras que la verde, se correspondería con flavononas como naringina y neohesperidina; una de las de color azul claro con un Rf igual a 0,65 se correspondería con ácidos carboxílicos fenólicos y cumarinas, mientras que la otra mancha azul claro posee un Rf de 0.96 similar al Rf reportado para ácido ferúlico que es de 0,97.



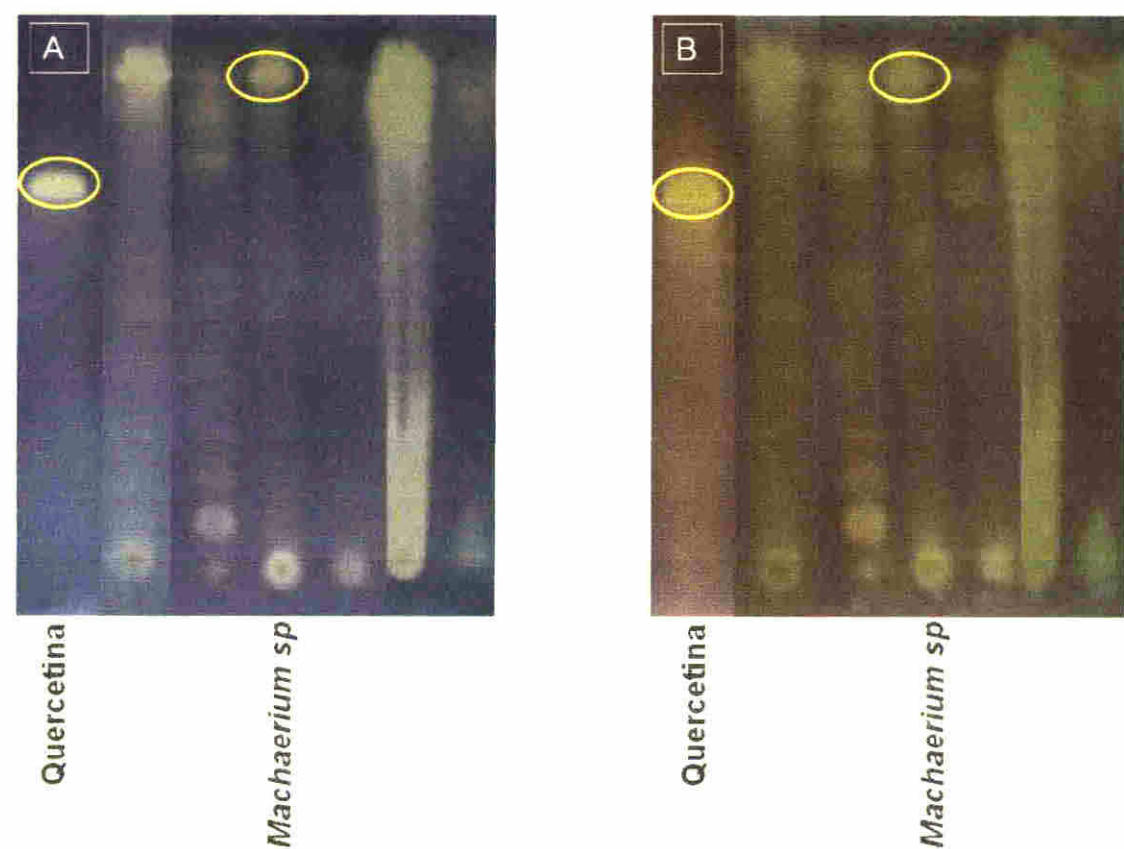
**Fig. 37.** **A.** Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. **B.** Cromatograma del extracto metanólico del tallo de *Machaerium sp.*

**Cuadro XXXV.** RESULTADOS DE CCF DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Machaerium* sp. (TALLO).

Extracto metanólico	Colores y Rf de las manchas observadas	Estructuras químicas según la emisión del color de la fluorescencia de la mancha	Compuestos a los que se pudiera parecer según los cromatogramas de referencia (Wagner <i>et al.</i> , 2003)
<b><i>Machaerium</i> sp. (tallo)</b>	Rf <sub>1</sub> =0,31	Flavonas y flavonoles	Quercetina – 3- O- gentoibiosido Quercetina – 3- O- soporósido
	Rf <sub>2</sub> =0,52 Rf <sub>3</sub> =0,76	Flavonas y flavonoles	
	Rf <sub>1</sub> =0,44	Flavononas	Naringina y neohesperidina
	Rf <sub>1</sub> =0,65	Pueden contener ácidos carboxílicos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogénico) y cumarinas (escopolotín)	
	Rf <sub>2</sub> =0,96	Ácido ferúlico Rf = 0,97	

Cabe mencionar que al revisar la literatura para *Machaerium* sp. no se encontraron estudios que evalúen la presencia de flavonoides por CCF; sin embargo, sí se han descrito para diferentes especies del género *Machaerium*, usando otras técnicas, por ejemplo, nuevos neoflavonoides en el caso de *M. kuhlmannii* y *M. nictitans* (Ollis *et al.*, 1968) y más recientemente, se aislaron diversos isoflavonoides en *M. aristulatum* (Seo *et al.*, 2001).

En cuanto a la evaluación de la actividad antioxidante por el método autobiográfico, el extracto metanólico de las hojas de *Machaerium* sp. presentó una mancha con intensidad de dos cruces, comparada con el control a los 300 minutos, datos evidenciados a continuación en la figura 38 y en el cuadro XXXVI.



**Fig. 38.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0,5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para *Machaerium sp.* a diferentes tiempos. **A.** Lectura a los 30 minutos. **B.** Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XXXVI.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS PARA *Machaerium sp.*

Extractos metanólico	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Machaerium sp.</i> (tallo)	++	++
Control	+	+
Quercetina	++	+++



El extracto metanólico del tallo de *Machaerium sp.* mostró una excelente actividad antioxidante ya que sólo necesitó 2 500 µg/mL, para llegar al máximo porcentaje de inhibición (95, 589 %), con una CE<sub>50</sub> muy buena, la cual fue de 9 µg/mL, indicando así que el extracto sólo una pequeña concentración para alcanzar el 50% de inhibición, como se puede observar en la figura 39 y en el cuadro XXXVII. Además a la hora de compararlo con los controles no hubo diferencia estadísticamente significativa. Indicando así que su comportamiento antioxidante es muy parecido a quercetina y ácido clorogénico.

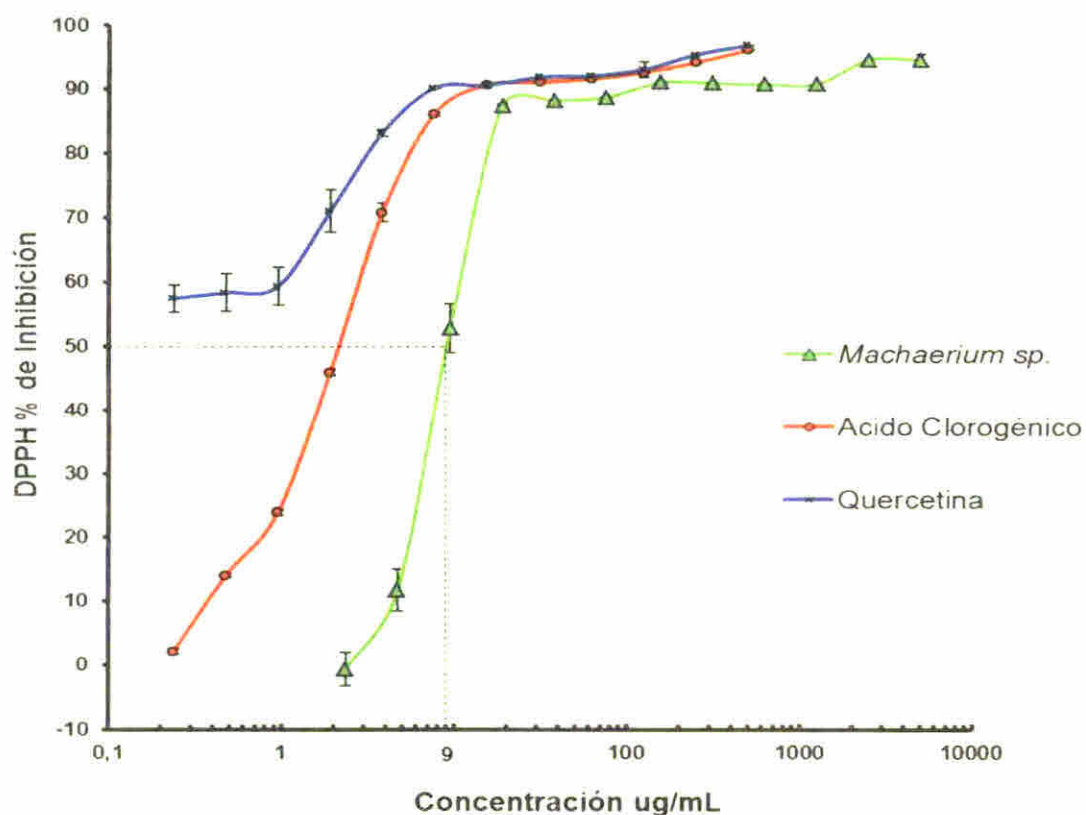


Fig. 39. Actividad atrapadora de radicales libres del tallo de *Machaerium sp.*

**Cuadro XXXVII.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH PARA *Machaerium sp.*

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Machaerium sp.</i>	Tallo	95,589	2 500	9
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----

CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva cincuenta

DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo

Aunque para *Machaerium sp.* no existen reportes de ensayos de actividad antioxidante. Existen reportes de estudios realizados en diferentes especies del género *Machaerium* como el descrito para *M. villosum*, que utilizando resonancia paramagnética electrónica y DPPH describieron la presencia de actividad antioxidante (Santos, A. 2006).

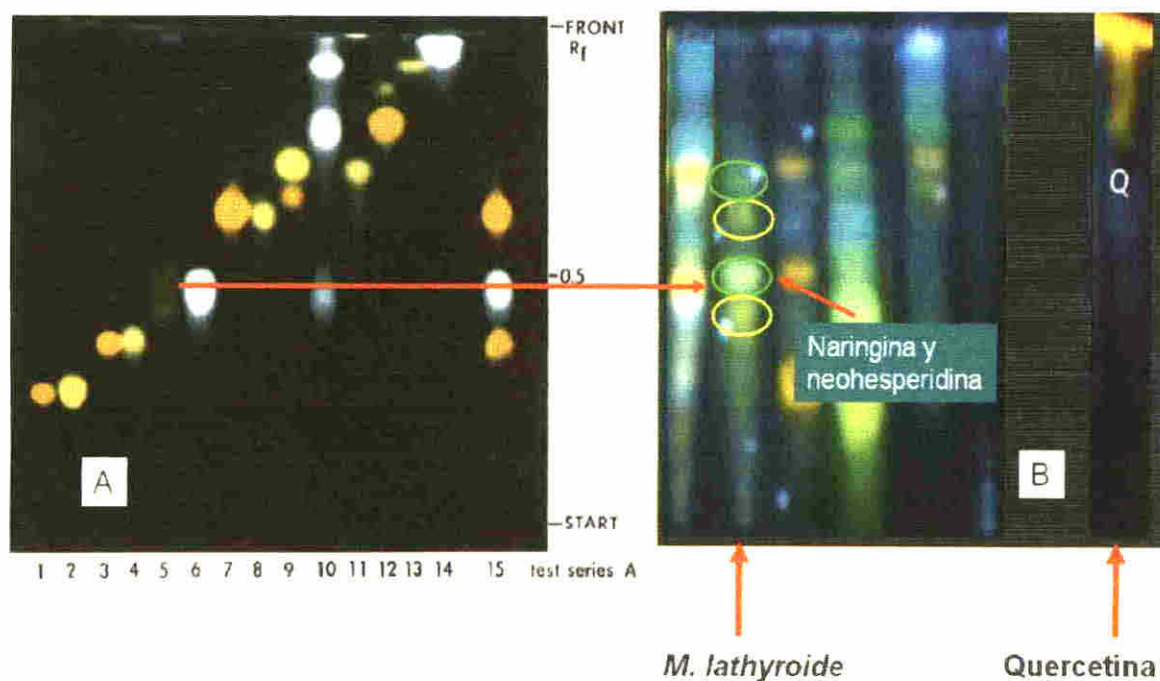
De igual forma otros investigadores evaluaron la actividad antioxidante en *M. floribundum*, sobre los fibroblastos en el proceso inflamatorio del acné, presentando una actividad secuestradora del radical libre DPPH de 93 % a una concentración de 100 µg/mL, con una CE<sub>50</sub> de 34 µg/mL, en donde el poder reductor evidenció ser dependiente de la concentración (Díaz *et al.*, 2011). También se ha descrito efecto antiinflamatorio para *M. hirtum vell* (Ignoato *et al.*, 2012).

Si bien en cierto el extracto que se estudió es de una especie de *Machaerium* aún sin identificar, es posible que la especie evaluada al tener

buena actividad antioxidante también presente actividad antiinflamatoria lo que requeriría ser evaluado en estudios posteriores.

#### E. *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (raíz)

Como se observa en la figura 40, para el extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban se pudo evidenciar de manera preliminar la presencia de flavonoides, al obtener 4 manchas en el cromatograma. Dentro de los cuales pudieran estar las flavonas, flavonoles y flavononas, como se evidencia en el cuadro XXXVIII.



**Fig. 40.** **A.** Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. **B.** Cromatograma del extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban.

**Cuadro XXXVIII.** RESULTADOS DE CCF DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (RAÍZ).

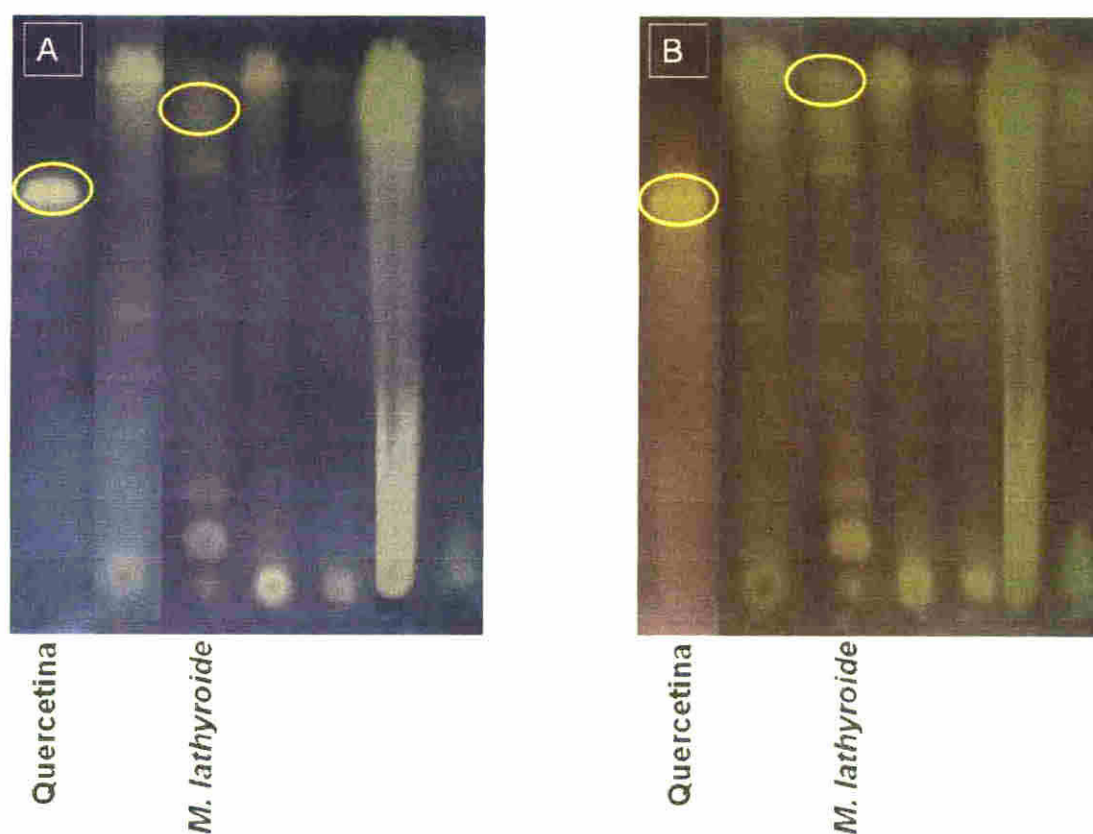
Extracto metanólico	Colores y Rf de las manchas observadas	Estructuras químicas según la emisión del color de la fluorescencia de la mancha	Compuestos a los que se pudiera parecer según los cromatogramas de referencia (Wagner <i>et al.</i> , 2003)
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	Rf <sub>1</sub> =0,43	Flavonas y flavonoles	
	Rf <sub>2</sub> =0,62		
	Rf <sub>1</sub> =0,44	Flavononas	Naringina y neohesperidina
	Rf <sub>2</sub> =0,68	Flavononas	

Y al realizar la comparación para encontrar a que estructura se pudieran parecer encontramos que una de las manchas de color verde oscuro se parece a las flavononas con estructuras químicas identificadas como naringina y neohesperidina.

Aunque para *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban, específicamente, no existen estudios que reporten la presencia de flavonoides, se ha descrito que las hojas, las flores y los frutos de *M. bracteatum* presentan varios compuestos bioactivos como fenoles, flavonoides, terpenoides, hidratos de carbono, proteínas, saponinas, indoles y glicósidos. Este análisis cualitativo reveló que existen flavonoides, antocianidinas y veintidós compuestos fenólicos con dos compuestos no identificados en cada parte junto con cuatro flavonoides y un compuesto de antocianidina en las flores (Chittamuri *et al.*, 2012).



Como se observa en la figura 41 y cuadro XXXIX, al realizar la CCF para evaluar la actividad antioxidante ante DPPH, el extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban mostró moderada actividad antioxidante por la presencia de manchas amarillas observadas en el cromatograma con intensidad de color de dos cruces, comparadas con quercetina.



**Fig. 41.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0,5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para *Macroptilium lathyroides* a diferentes tiempos. **A.** Lectura a los 30 minutos. **B.** Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XXXIX.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS PARA *Macroptilium lathyroides*.

Extractos metanólicos	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	+	++
<b>Control</b>		
Quercetina	++	+++

En cuanto a la actividad atrapadora de radicales libres el extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban sólo alcanzó un 94.312% de inhibición, a una concentración de 5 000 µg/mL y al realizar la comparación con los controles quercetina y ácido clorogénico se encontró que si hubo diferencia estadísticamente significativa frente quercetina pero no así frente a ácido clorogénico. Evidenciando que su tendencia antioxidante se pudiera parecer a dicho control. Mientras que la CE<sub>50</sub> del extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban fue de 360 µg/mL, siendo este un valor alto, datos observados en la figura 42 y cuadro XL. De tal manera que el extracto metanólico de la raíz de *M. lathyroides* presenta una baja actividad antioxidante en comparación con los controles.

Es importante resaltar que en la literatura consultada para *Macroptilium lathyroides* (L.) Urbans no existen estudios que reporten de actividad antioxidante de ningún tipo.

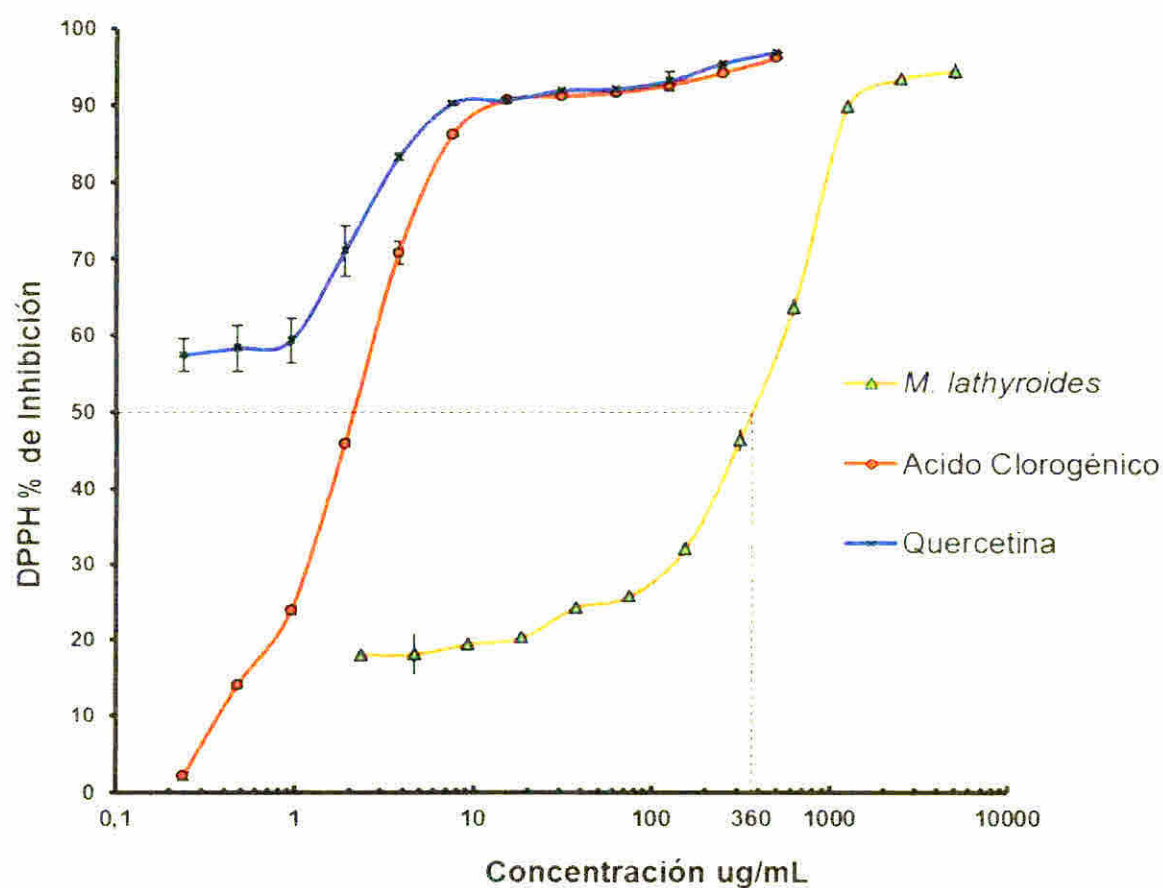
**Cuadro XL.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH PARA *Macroptilium lathyroides*

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban	Raíz	94,312 *	5 000	360
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----

CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva cincuenta

DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo

Significación estadística: \* P < 0,05 Vs quercetina



**Fig. 42.** Actividad atrapadora de radicales libres de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban.



#### F. *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks. (raquis de infructescencia)

En la identificación preliminar de flavonoides, datos observados en la figura 43, *Ormosia coccinea* presentó siete manchas, de colores variados. Por lo tanto, el extracto contiene flavonoides con diferentes estructuras que pueden ser flavonas, flavonoles, flavononas y otros compuestos que pudieran contener ácidos carboxílicos fenólicos que dan origen a otros tipos de estructuras químicas, como se observa en el cuadro XLI.

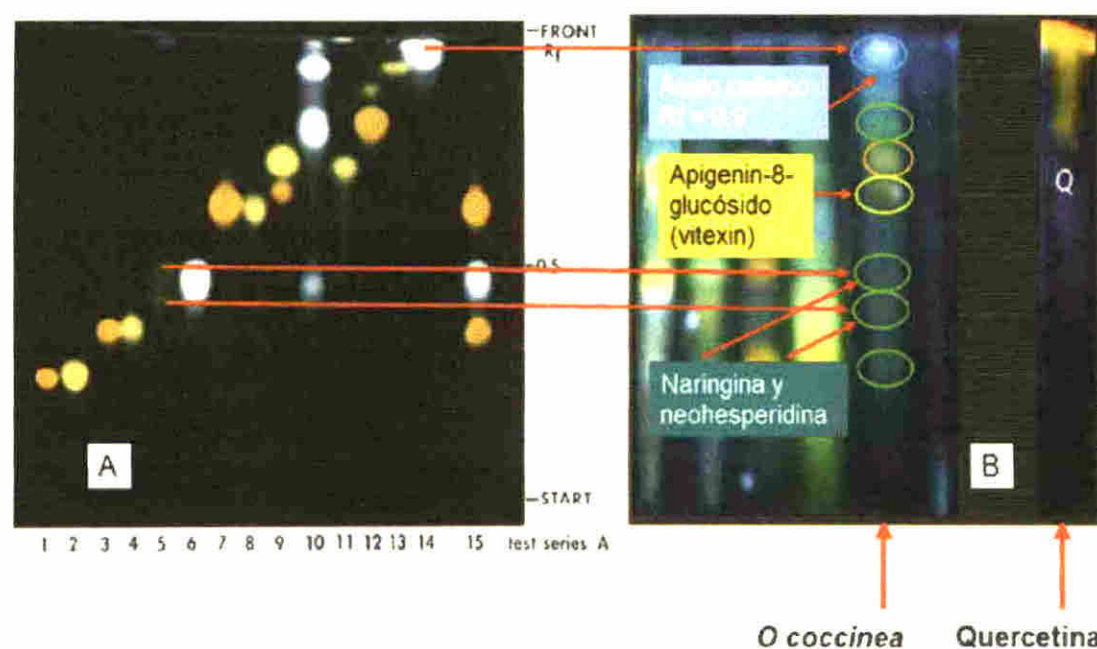


Fig. 43. **A.** Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. **B.** Cromatograma del extracto metanólico del raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks.

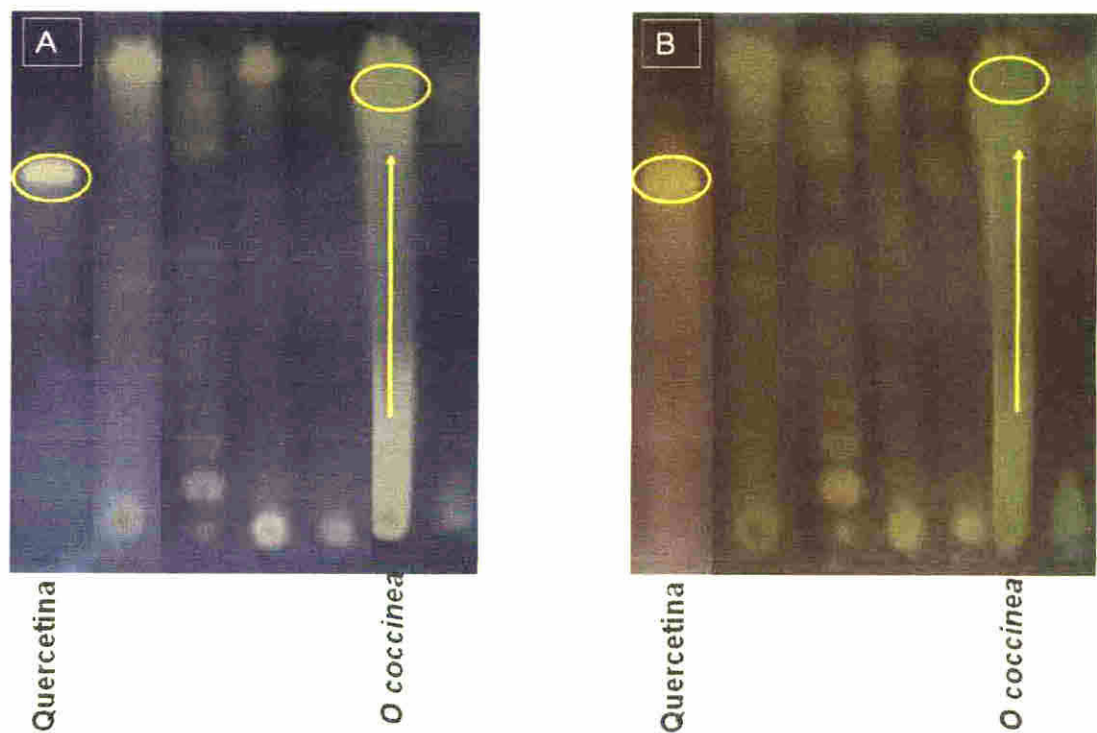
**Cuadro XLI.** RESULTADOS DE CCF DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks. (RAQUIS DE INFRUCTESCENCIA).

Extracto metanólico	Colores y Rf de las manchas observadas	Estructuras químicas según la emisión del color de la fluorescencia de la mancha	Compuestos a los que se pudiera parecer según los cromatogramas de referencia (Wagner <i>et al.</i> , 2003)
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks. (raquis de infructescencia)	Rf <sub>1</sub> =0,66	Flavonas y flavonoles	Apigenin-8-glucósido (vitexin)
	Rf <sub>1</sub> =0,73	Flavonas y flavonoles	
	Rf <sub>1</sub> =0,32	Flavononas	
	Rf <sub>2</sub> =0,42	Flavononas	Naringina y neohesperidina
	Rf <sub>3</sub> =0,51		
	Rf <sub>4</sub> =0,78	Flavononas	
	Rf <sub>1</sub> =0,92	Pueden contener ácidos carboxílicos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogénico) y cumarinas (escopolotina)	Ácido caféico (Rf = 0,9)

De estas siete manchas obtenidas en el extracto metanólico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks. la mancha amarilla se parece en posición y color a apigenin-8-glucósido (vitexin). Dos de las manchas verdes se ubican a la altura de naringina y neohesperidina y una mancha de color azul claro cuyo Rf es de 0,92 se parece al descrito en la literatura para el ácido caféico que es de 0,9.

Como se aprecia en la figura 44 y el cuadro XLII Al evaluar la actividad antioxidante mediante el ensayo autobiográfico el extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (raquis de infructescencia) presentó una intensidad de color de la mancha muy marcada identificada por tres cruces, comparada con quercetina. Siendo este extracto al cual se le identificó la mayor presencia de

color amarillo de la mancha a los 30 minutos hasta los 300 minutos indicando así la relevante actividad antioxidante presentada por el extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (raquis de infructescencia).



**Fig. 44.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0,5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) para *Ormosia coccinea* a diferentes tiempos. **A.** Lectura a los 30 minutos. **B.** Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XLII.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS PARA *Ormosia coccinea*.

Extractos metanólicos	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks. (raquis de infructescencia)	+++	+++
<b>Control</b>		
Quercetina	++	+++

Dicho resultado concuerda con la capacidad atrapadora de radicales libres (DPPH) obtenida, datos observados en la figura 45 y cuadro XLIII. En donde el extracto *Ormosia coccinea* (raquis de infructescencia) mostró un porcentaje de inhibición de 95,643% a la concentración de 2 500 µg/mL con un valor de  $CE_{50}$  de 12 µg/mL, siendo esta un valor muy favorable ya que nos indica que sólo necesitamos 12 µg/mL, para inhibir el 50% de los radicales libres, en este caso el DPPH. Así mismo no hubo diferencia significativa al compararse con el control quercetina y ácido clorogénico. De tal forma que podemos decir que el extracto tiene un comportamiento antioxidante parecido a los controles.

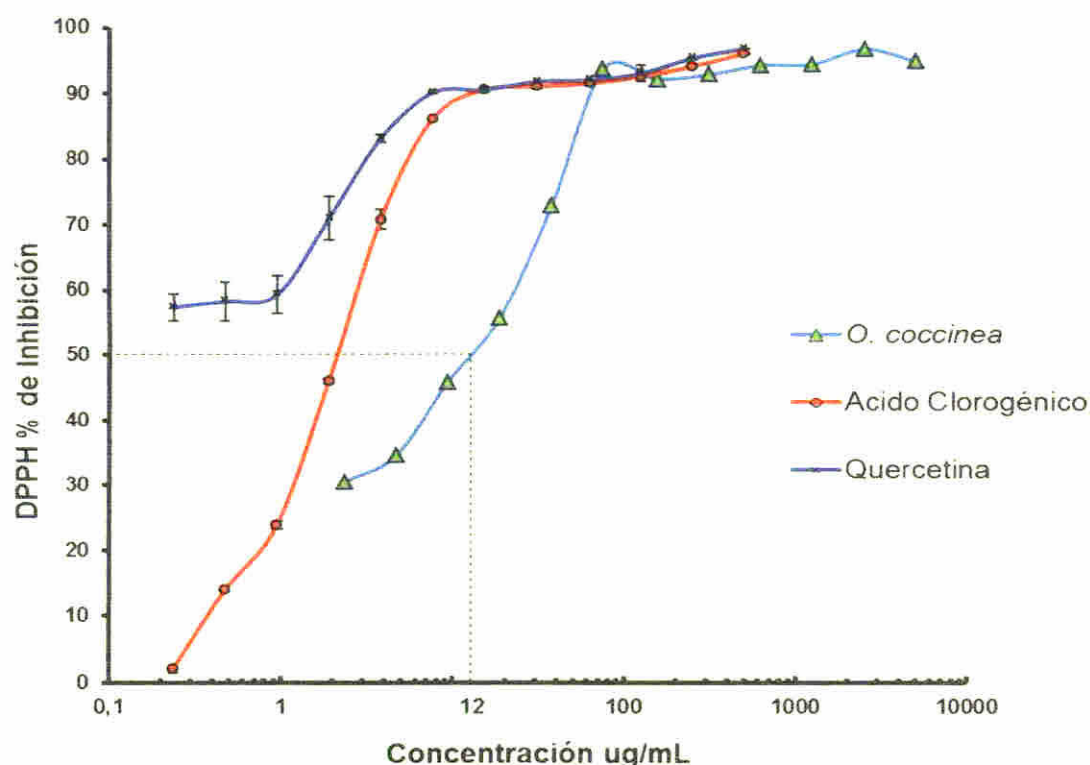


Fig. 45. Actividad atrapadora de radicales libres del raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks.



**Cuadro XLIII.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH PARA *Ormosia coccinea*.

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks.	Raquis de infructescencia	95,643	2 500	12
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----

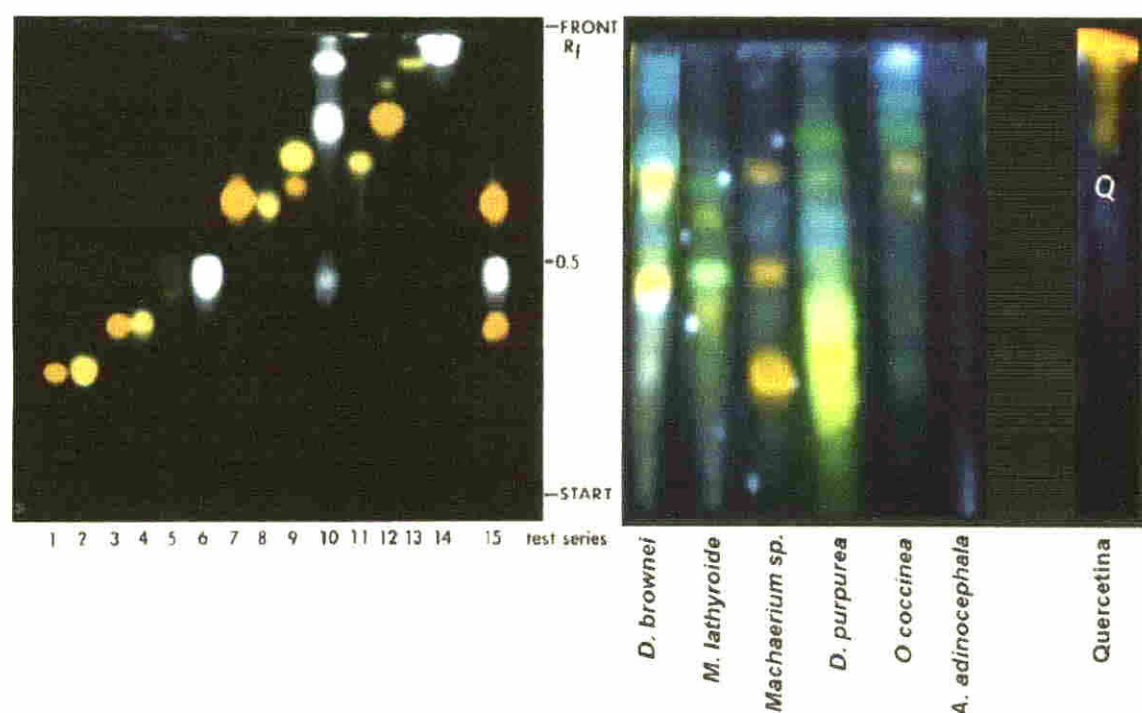
CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva cincuenta  
DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo

Cabe mencionar que en la bibliografía revisada hasta el momento para *Ormosia coccinea* no se encuentran estudios que reporten identificación de flavonoides y actividad antioxidante. Sólo existe un estudio realizado en la raíz de *O. henry* Prain, en el cual se identificó la presencia de un isoflavonoide llamado ormosinol (compuesto 1) y un glicósido de flavonoide llamado ormosinósida (compuesto 2), en donde al compuesto 1 se le ha atribuido una responsable de la actividad antioxidante, con un valor de CE<sub>50</sub> de 28,5 mM. Mientras que el compuesto 2 se ha demostrado que es inactivo ante los sistemas de ensayo (Fenga *et al.*, 2012).

Es importante resaltar que para la *Ormosia coccinea* no se reportan usos en la medicina tradicional y, al ser muy tóxica, solamente se utiliza para la fabricación de adornos y joyas.

Finalmente podemos observar basados en el cromatograma de la figura 46 y de acuerdo al siguiente cuadro resumido (cuadro XLIV), que el extracto que presentó la mayor cantidad de bandas de diferentes colores

correspondientes a la identificación preliminar de flavonoides por CCF fue el extracto metanólico del tallo de *Diploporis purpurea* (Rich) Amshoff el cual presentó ocho bandas en total, en segundo lugar se ubicó el extracto metanólico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks. con siete bandas; el tercer lugar se ubicaron los extractos metanólicos de las hojas de *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz y el tallo de *Machaerium* sp., con seis bandas cada uno; en cuarto lugar se ubicó el extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban, mientras que el extracto metanólico de la corteza de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose no presentó ninguna banda.



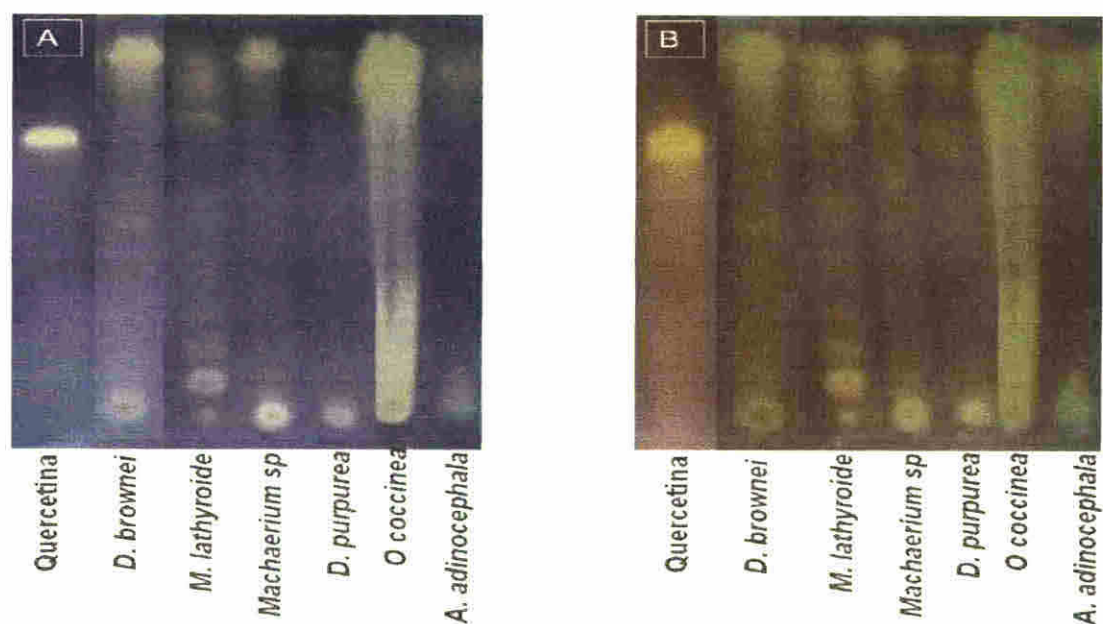
**Fig. 46.** A. Cromatograma de referencia usado para identificar los flavonoides, tomado de Wagner *et al.*, 2003. B. Cromatograma de los extractos metanólicos evaluados.

**Cuadro XLIV.** MANCHAS OBSERVADAS EN EL CROMATOGRAMA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES.

Extracto metanólico	Color y número de las manchas observadas				Total de manchas
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)	0	0	0	0	0
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz (hojas)	0	2	0	4	6
<i>Diploptropis purpurea</i> (Rich) Amshoff (tallo)	3	0	3	2	8
<i>Machaerium</i> sp. (tallo)	0	3	1	2	6
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	2	0	2	0	4
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks. (raquis de infructescencia)	1	1	4	1	7
Quercetina	0	1	0	0	1

Como se aprecia en cromatograma de la figura 47 y en el cuadro XLV en relación a la actividad antioxidante por el método de DPPH de todos los extractos metanólicos evaluados a los 30 y a los 300 minutos se observa que el extracto metanólico obtenido a partir de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks presentó la mayor intensidad de la mancha identificada con tres cruces, a los 30 y 300 minutos, comparado con quercetina que también presentó tres cruces a los 300 minutos. Mientras que los extractos metanólicos de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza) y *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (raíz) a los 30 minutos la intensidad de la mancha fue de una cruz, la cual se intensificó a dos cruces a los 300 minutos. El extracto metanólico de las hojas de *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz mantuvo sus dos cruces de intensidad de la mancha a los 30 y 300 minutos. Y el tallo de *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff presentó la





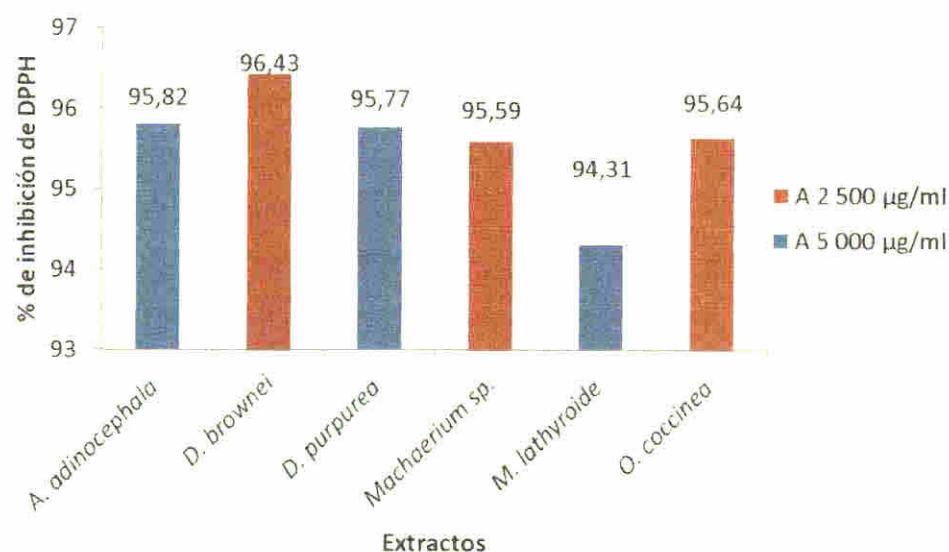
**Fig. 47.** Cromatograma para la identificación cualitativa de la actividad de DPPH (0,5%) fase reversa (metanol-agua 8:2) a diferentes tiempos. **A.** Lectura a los 30 minutos. **B.** Lectura a los 300 minutos.

**Cuadro XLV.** RESULTADOS DE LAS MANCHAS OBSERVADAS EN EL ENSAYO AUTOBIOGRÁFICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS

Extractos metanólicos	Intensidad de color de las manchas a los diferentes tiempos	
	30 minutos	300 minutos
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)	+	++
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz (hojas)	++	++
<i>Diploptropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff (tallo)	+	+
<i>Machaerium sp.</i> (tallo)	++	++
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	+	++
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks. (raquis de infructescencia)	+++	+++
<b>Control</b>		
Quercetina	++	+++

intensidad de la mancha de una cruz a los 30 y 300 minutos. Todos estos resultados se compararon con quercetina.

En el cuadro XLVI y figura 48 se observa que el extracto que presentó la mayor actividad atrapadora de radicales libres fue el extracto metanólico del tallo de *Machaerium sp.* al obtener la máxima inhibición a la concentración de 2 500  $\mu\text{g/mL}$  con un valor de  $\text{CE}_{50}$  de 9  $\mu\text{g/mL}$ , comparado con ácido clorogénico; le sigue el extracto metanólico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks que a la concentración de 2 500  $\mu\text{g/mL}$  obtuvo la máxima inhibición del radical libre con una  $\text{CE}_{50}$  de 12  $\mu\text{g/mL}$ ; de la misma manera el extracto metanólico de las hojas de *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz necesitó la misma concentración que el extracto mencionado anteriormente para llegar al efecto máximo con una  $\text{CE}_{50}$  de 35  $\mu\text{g/mL}$ .



**Fig. 48.** Porcentajes de inhibición alcanzados por los diferentes extractos metanólicos evaluados.

**Cuadro XLVI.** RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH.

Extracto metanólico	Parte de la planta	% de inhibición de DPPH	Concentración del extracto (µg/mL)	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose	Corteza	95,815**	5 000	890
<i>Dalbergia brownei</i>	Hoja	96,426	2 500	35
<i>Diploptropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff	Tallo	95,772	5 000	37
<i>Machaerium sp.</i>	Tallo	95,589	2 500	9
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban	Raíz	94,312*	5 000	360
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks.	Raquis de infructes -cencia	95,643	2 500	12
<b>Controles</b>				
Ácido clorogénico	-----	96,051	500	2,1
Quercetina	-----	96,823	500	-----
CE <sub>50</sub> = Concentración efectiva 50 DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo		Significación estadística: * P< 0.01 Vs quercetina Significación estadística: ** P< 0.05 Vs quercetina		

comparados con ácido clorogénico. Y los extractos metanólicos de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban y de la corteza de *Albizia adinocephala* necesitaron 5 000 µg/mL para alcanzar los máximos porcentajes de inhibición con valores de CE<sub>50</sub> de 360 y 890 µg/mL respectivamente, comparados con los controles.

En el cuadro XLVII se reporta la actividad antioxidante representada por la CE<sub>50</sub> y por la intensidad de las manchas de color amarillo obtenidas en la CCF

para los diferentes extractos evaluados; en donde se aprecia que el extracto metanólico que presentó la mayor actividad antioxidante evaluado por las dos

**Cuadro XLVII.** ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR LOS DOS PARÁMETROS EVALUADOS.

Extractos	Capacidad secuestradora de radicales libres (DPPH)	Intensidad de color de las manchas de la CCF usando DPPH como revelador
	CE <sub>50</sub> (µg/mL)	300 min.
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose (corteza)	890	++
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz (hojas)	35	++
<i>Diplostropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff (tallo)	37	+
<i>Machaerium</i> sp. (tallo)	9	++
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urban (raíz)	360	++
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks. (raquis infructescencia)	12	+++
<b>Controles</b>		
Ácido clorogénico	2,1	-----
Quercetina	-----	+++

DPPH = 2,2, difeni-1-picrilhidracilo

CE<sub>50</sub> = Concentración efectiva cincuenta

CCF = Cromatografía de capa fina

----- = No se identificó o no se realizó

técnicas fue el obtenido a partir de raquis infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks al obtener un valor de la CE<sub>50</sub> de 12 µg/mL y tres cruces en la intensidad de la mancha ante DPPH. De igual forma se observa que otro extracto que presentó una buena actividad antioxidante fue el



obtenido a partir del tallo de *Machaenum sp* el cual presento dos cruces con una valor de  $CE_{50}$  de 9  $\mu\text{g/mL}$ . Y los extractos metanolico de *Albizia adinocephala* (J D Sm ) Britt & Rose (corteza) y de *Macroptilium lathyroides* (L ) Urban (raiz) fueron los extractos que presentaron los mayores valores de  $CE_{50}$  ademas de presentar solo dos cruces en la intensidad de la mancha ante DPPH

Todos los resultados de actividad antioxidante descritos anteriormente son muy interesantes tomando en cuenta que la evaluacion de la actividad antioxidante se le realizo a un extracto y no a la fraccion activa del mismo lo que nos hace suponer que potencialmente pudiera si es fraccionado tener una actividad mayor a la que demostro el extracto de cada planta

## DISCUSIÓN CONJUNTA

En el cuadro XLVIII se plasman todos los resultados de las diferentes actividades evaluadas de los seis extractos metanolicos estudiados. Datos que nos sirvan de base para efectuar la discusión conjunta de los extracto

### I *Albizia adinocephala* Britt & Rose (corteza)

El extracto metanolico de la corteza de *A adinocephala* fue uno de los extractos que presento buena actividad antimicrobiana al inhibir el crecimiento de *B subtilis*, *S aureus* y con una potente actividad inhibitoria frente a MRSA, ademas de ser el unico extracto que presento actividad inhibitoria contra *E coli*. Asi mismo presento una excelente actividad antimicotica al inhibir el crecimiento de *Penicillium sp* y *Aspergillus niger*, datos que se resumen en la cuadro XLVIII. Los efectos antimicrobianos descritos anteriormente se podrian deber a la presencia de sustancias como alcaloides tipo espermina (Samoylenko *et al* 2009, Ghaly *et al* 2010), ya que al realizar la CCF en el extracto metanolico de la corteza de *A adinocephala* no se encontro la presencia de ningun tipo de flavonoides al no observar ninguna mancha en el cromatograma. Por otro lado la actividad antioxidante no fue muy relevante al alcanzar un porcentaje de inhibicion de 95.815 % del radical DPPH a la concentracion de 5.000 µg/mL, presentando asi la mayor CE<sub>50</sub> obtenida durante el estudio la cual fue de 890 µg/mL. Cabe mencionar que el extracto metanolico de *A adinocephala* (corteza) presento diferencia estadisticamente significativa ( $P < 0.01$ ) frente a



**Cuadro XLVIII. RESULTADOS DE LAS ACTIVIDADES EVALUADAS EN LOS SEIS EXTRACTOS**

Extractos metanólicos	Antimicrobiana			Antioxidante				Farmacológica
	Antibacteriana		Antimicótica	CCF	Espectrofotometría			
	Cepas tipo salvaje	Cepas tipo resistente	Hongos mm de inhibición extracto /mm control		Identificación preliminar de flavonoides.	Autobio-grafía a los 300 min /control	% de inhibición (conc. del extracto en µg/ mL)	
<b>Albizia adinocephala (J.D.Sm.) Britt. &amp; Rose (corteza)</b>	<i>E. coli</i> (400/ ≤1)		<i>P. sp.</i> 12/ 28	-----				Micción aumentada Heces blandas
	<i>B. subtilis</i> (400/ ≤1)	MRSA (125/ ≤3)			++/+++	95,815 (5 000)	890	
	<i>S. aureus</i> (200/ ≤1)		<i>A. niger</i> 7/14					
<b>Dalbergia brownei (Jacq.) Schinz (hojas)</b>		S/A		6 manchas, posible relación con glicósidos de quercetina , luteolin-8-glucósido, ácido clorogénico y ácido caféico.	++/+++	96,426 (2 500)	35	Heces blandas
<b>Diplotropis purpurea (Rich) Amshoff (tallo)</b>	<i>K. pneumoniae</i> (900/≤1)	S/A	S/A	8 manchas, posible relación con kaempferol -3-O-gentiobio-sido, vitexina-2-O-ramnosido, flavononas y ácido ferúlico	+ /+++	95,772 (5 000)	37	Actividad motora disminuida Analgesia Heces blandas

Extractos metanólicos	Antimicrobiana			Antioxidante				Farmacológica
	Antibacteriana		Antimicótica	CCF	Espectrofotometría			
	Cepas tipo salvaje	Cepas tipo resistente	Hongos mm de inhibición extracto /mm control		Identificación preliminar de flavonoides.	Autobio- grafía a los 300 min /control	% de inhibición (conc. del extracto en µg/ mL)	
<b>Machaerium sp. (tallo)</b>	K. <i>pneumoniae</i> (575/≤1)	MRSA (900/≤3)	S/A	6 manchas , posible relación con quercetina –3-O-gentoibió- sido, naringina y neohesperidina y ácido ferúlico	++/+++	95,58 (2 500)	9	Analgesia
<b>Macroptilium lathyroides (L.) Urban (raíz)</b>	<i>B. subtilis</i> (500/≤1)	S/A	S/A	4 manchas , posible relación con flavonas, flavonoles, naringina y neohesperidina	++/+++	94,312 (5 000)	360	Micción aumentada
<b>Ormosia coccinea (Aubl.) Jacks. (raquis de infructescencia)</b>	K. <i>pneumoniae</i> (225/≤1) <i>P. aeruginosa</i> (1 500/≤2) <i>B. subtilis</i> (800/≤1) <i>S. aureus</i> (225/≤1)	MRSA (450/≤3) KPC (3 000/≤2)	S/A	7 manchas , posible relación con apigenin-8-glucósido, flavonas, flavonoles, flavononas, y ácido caféico	+++ /+++	95,643 (2 500)	12	Analgesia Conducta agresiva

Los controles fueron Gentamicina 2 µg/ml para la cepas bacterianas, Vancomicina 4 µg/ml para MRSA y Tigeciclina 8 µg/ml para KPC.

----- = No se identificó ningún tipo de flavonoide.

quercetina pero no así frente a ácido clorogénico. Y en el ensayo autobiográfico con DPPH el extracto solo presentó una intensidad de color de la mancha de dos cruces.

Es importante mencionar que aunque no se haya identificado biomoléculas tipo flavonoide en el extracto metanólico de *A. adinocephala* Britt & Rose (corteza) se sabe que el género *Albizia* es rico en alcaloides compuestos a los cuales se les ha atribuido importantes acciones biológicas y que pudieran ser los responsables de las propiedades medicinales que presenta la planta (Ovenden *et al* 2002 Samoylenko *et al* 2009). Además de contener otros compuestos como son saponinas, fenoles, triterpenoides, diterpenoides, lignanos y piridinoglicosidos entre otros (Ghaly *et al* 2010 Tamokou *et al* 2012 Yoshikawa *et al* 2002).

En cuanto a la evaluación farmacológica por medio del Screening Hipocrático el extracto metanólico obtenido a partir de la corteza de *A. adinocephala* no presentó ningún efecto farmacológico importante solo presentó micción aumentada y heces blandas tampoco presentó efectos tóxicos ni muerte a la dosis ensayada (1000 mg/kg).

## **II *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz (hojas)**

Como se observa en el cuadro XLVIII el extracto metanólico de las hojas de *D. brownii* no presentó actividad antimicrobiana aspecto que otros autores ya habían corroborado (Rabe *et al* 1997 Steenkamp *et al* 2007). Sin embargo hay autores que confirman que otras especies diferentes a *brownii* pueden

presentar actividad antibacteriana (De Almeida *et al* 2000 Gundidza *et al* 1993) Esto se podría explicar por la presencia de los propoleos a quienes se les ha atribuido una importante acción antimicrobiana (Fernandez M 2007)

Si bien es cierto que existen reportes en donde se asocia la actividad antimicrobiana con la presencia de flavonoides en el presente estudio se presenta en evidencia que no necesariamente es así ya que el extracto metanólico de las hojas de *D. browni* a pesar de no haber presentado actividad antimicrobiana se le identificó por la técnica de CCF seis manchas dentro de las cuales podría haber relación con glicosidos de quercetina luteolin-8-glucosido ácido clorogénico y ácido cafeico Y por si fuera poco el extracto metanólico de *D. browni* (hojas) presentó una buena actividad antioxidante frente a DPPH ya que a la concentración de 2 500 µg/mL alcanzó el 96.426% de inhibición con una CE<sub>50</sub> 35 µg/mL Además de no haber diferencia significativa entre el extracto y los controles quercetina y ácido clorogénico Y en el ensayo autobiográfico la mancha observada fue de dos cruces De ahí que para especies del género *Dalbergia* se han reportado la presencia de nuevos compuestos bioactivos tipo fenólico (Cheenpracha *et al* 2009) Y otros autores reportan isoflavonoides incluyendo la quinona isoflavona que podrían estar relacionadas con la actividad antioxidante que presenta el género (Hamburger *et al* 1987)

Sin dejar de considerar que el género *Dalbergia* es rico en sustancias llamadas propoleos los cuales poseen una fuerte actividad antioxidante la cual

esta relacionada fundamentalmente con la presencia de flavonoides (Fernandez M 2007)

En la evaluacion farmacologica el extracto metanolico de las hojas de *D brownei* no mostro ningun efecto significativo ni farmacologico ni toxico observandose la supervivencia de todos los animales a la dosis estandar máxima sugerida (1 000 mg/kg) para evaluacion de extractos de plantas

### III *Diplotropis purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo)

Como se observa en el cuadro XLVIII el extracto metanolico del tallo de *D purpurea* (Rich ) Amshoff solo inhibio el crecimiento de *K pneumoniae* y actividad antimicotica En la literatura consultada solo hay un estudio que reporta actividad contra bacterias realizado en una especie del genero *Diplotropis* (Cerqueira *et al* 2011)

Aunque la actividad antimicrobiana no fue muy favorable en el extracto metanolico del tallo de *D purpurea* (Rich ) Amshoff se pudo evidenciar la presencia de flavonoides por CCF al presentar ocho manchas en el cromatograma siendo el extracto de *D purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo) el extracto al que se identifico la mayor cantidad de manchas Que de acuerdo a lo establecido anteriormente podrian tener relacion con kaempferol 3-O gentiobiosido vitexina 2 O-ramnosido flavononas y acido ferulico entre otros

En la evaluacion farmacologica del extracto metanolico de *D purpurea* (Rich ) Amshoff (tallo) en los animales se observo actividad motora disminuida analgesia heces blandas Ademas de no mostrar efectos tóxicos al no



observarse muerte durante la administracion aguda del extracto Señalando que el efecto analgesico observado en los animales pudiera tener relacion con la apreciable actividad antioxidante que presento el extracto (95 772% de inhibicion a la concentracion de 5 000  $\mu\text{g/mL}$  con un valor de la  $\text{CE}_{50}$  igual a 37  $\mu\text{g/mL}$  sin diferencia significativa al compararlo con los controles) La relacion entre el efecto analgesico y la actividad antioxidante se debe a la presencia de compuestos oxidantes los cuales generan dano oxidativo a las celulas (Atawodi 2005) y las plantas al tener un potencial AOX (Rajurkar y Hande 2011) pudieran disminuir el dolor originando asi el efecto analgesico evidenciado por el extracto Lo que requeriria ser evaluados en posteriores estudios para comprobar dicho efecto Cabe mencionar que es el primer reporte de actividad farmacologica (analgesia) importante descrita para una especie del genero *Diplotropis* aunque existe un estudio realizado en *Diplotropis ferruginea* en el cual se reporta actividad tipo espasmolitica (Lima et al 2005)

Respecto a la actividad antioxidante existen pocos estudios que describan la actividad antioxidante para el genero *Diplotropis* (Pereira et al 2007) Pero hay otros autores que reportan la presencia de sustancias relacionadas con accion antioxidante (Almeida et al 2005)

#### **IV *Machaenum* sp (tallo)**

El extracto metanolico del tallo de *Machaenum* especie sin identificar presento actividad antimicrobiana contra *K pneumoniae* *B subtilis* y *S aureus*



En cuanto a la actividad antimicótica el extracto metanolico de *Machaenum sp* (tallo) no presento actividad (datos evidenciados en el cuadro XLVIII) Es así como para otras especies del género *Machaenum* se reporta actividad antimicrobiana (Díaz *et al* 2011 Muhammad *et al* 2003 De Almeida *et al* 2000)

En la evaluación farmacológica el extracto metanolico del tallo de *Machaenum sp* produjo en los animales analgesia efecto que se relaciona con la actividad antioxidante como ya se explico en secciones anteriores Cabe mencionar que el efecto analgesico observado ya ha sido descrito para otras especies del genero *Machaenum* (Ignoato *et al* 2012) Por lo tanto se requiere ampliar los estudios para corroborar dicho efecto No se observo muerte ni efectos toxicos en los animales durante la administracion del extracto a la dosis aguda ensayada (1000 mg/kg)

Cabe mencionar que de todas las planta evaluadas en el ensayo de actividad antioxidante del extracto metanolico obtenido a partir del tallo de *Machaenum sp* fue el extracto que presento el mas bajo valor de CE<sub>50</sub> la cual fue de 9 µg/mL con un porcentaje de inhibicion ante DPPH de 95.589 % a una concentracion de 2.500 µg/mL y a la hora de evaluar la actividad por el metodo autobiografico la mancha observada fue de dos cruces. Ademas de no presentar diferencia significativas frente a los controles Evidenciando así su comportamiento antioxidante parecido a quercetina y acido clorogenico

La excelente actividad antioxidante presentada por el extracto metanolico del tallo de *Machaenum sp* coincidio con la presencia de flavonoides por CCF

que se realizo previamente en donde el extracto presento 6 manchas cuyas estructuras pudieran estar relacionadas con quercetina – 3 O gentoibiosido naringina y neohesperidina y acido ferulico entre otros En base a los resultados de actividad antioxidante existen reportes realizados por varios autores en donde se han identificado biomoleculas de tipo flavonoide además de cuantificar la actividad antioxidante presente en diferentes especies del genero *Machaenum* (Santos A 2006 Diaz *et al* 2011 Seo *et al* 2001 Ollis *et al* 1968)

Tomando en consideracion estos resultado podriamos sugerir que existe una estrecha relacion entre la actividad antioxidante con la presencia de fitoquimicos tipo flavonoides presentes en las planta la cual ya ha sido descrita (Ouattara *et al* 2011) y corroborada en este estudio

## V *Macroptilium lathyroides* (L ) Urban (raiz)

En la evaluacion de la actividad antimicrobiana (datos evidenciados en el cuadro XLVIII) el extracto metanolico de la raiz de *Macroptilium lathyroides* (L ) Urban presento una leve actividad antimicrobiana al inhibir solo el crecimiento *B subtilis* y no presentar efecto frente a ningun hongo Aunque en la identificacion de flavonoides el extracto metanolico de la raiz de *Macroptilium lathyroides* (L ) Urban evidencio la presencia de 4 manchas cuyas estructuras pudieran estar relacionadas con flavonas flavonoles naringina y neohesperidina Basados en estos resultados ya se han descrito y cuantificado sustancias tipo fenoles flavonoides terpenoides hidratos de carbono proteinas saponinas indoles

glucosidos y antocianidinas contenidas en una especie diferente a *M lathyroides* (Zallocchi et al/ 1994 Chittamuri et al/ 2012)

Y a la hora de evaluar el efecto antioxidante el extracto metanolico de la raiz de *M lathyroides* necesito una concentracion de 5 000 µg/mL para alcanzar el efecto maximo con un CE<sub>50</sub> alta (390 µg/mL) ademas de presentar diferencias estadisticamente significativas (P<0.05) frente a quercetina pero no así frente a acido clorogenico Sin embargo en el ensayo autobiografico la intensidad de la mancha fue de tres cruces semejante a lo presentado por el control la quercetina

Durante la evaluacion farmacologica el extracto metanolico de la raiz de *M lathyroides* solo presento un ligero aumento en la miccion en todos los animales no se presentaron efectos toxicos al administrar la dosis aguda establecida (1000 mg/kg) observandose 100% de sobrevivencia en todos los animales ensayados

Se sabe que para otras especies del genero *Macroptilium* se les ha utilizado en medicina tradicional y se les ha encontrado importantes propiedades antihemorragicas (Filipoy et al/ 1994) Por lo tanto constituyen una importante fuente de lectinas de aplicacion en hematologia (Toms et al/ 1981)

## **VI *Ormosia coccinea* (Aubl ) Jacks (raquis infructescencia)**

En la evaluacion antimicrobiana el extracto metanólico *O coccinea* (raquis infructescencia) inhibio el crecimiento de todas las bacterias G (+) evaluadas en este ensayo (*B subtilis* *S aureus*) de dos bacterias G ( ) las cuales son *K*

*pneumoniae* y *P. aeruginosa*. Además de inhibir el crecimiento de bacterias resistentes (MRSA) y de bacterias multirresistente como lo es la KPC aunque lo hizo a concentración mayor a la establecida. Dicho resultado es muy interesante pues no hablamos de una fracción activa si no de un extracto. Es posible que su fracción demuestre un mayor efecto. Siendo así el extracto metanólico de *O. coccinea* (raquis infructescencia) el único extracto que presentó actividad frente a las dos cepas tipo resistente. Efecto que se pudiera relacionar con la marcada presencia de flavonoides identificados por CCF al observar la presencia de 7 manchas cuyas estructuras pudieran estar relacionadas con apigenin-8 glucosido, flavonas, flavonoles, flavononas y ácido cafeico entre otros. Efecto que va de la mano con la excelente efecto antioxidante presentada por el extracto.

Ya que de todos los extractos evaluados en este estudio el extracto metanólico obtenido a partir de raquis infructescencia de la planta *O. coccinea* fue uno de los extractos que mostró un alto efecto antioxidante al captar el 95.643% de DPPH a una concentración de 2.500 µg/mL con una CE<sub>50</sub> de 12 µg/mL siendo este un valor pequeño. Sin demostrar diferencias significativas frente a los controles quercetina y ácido clorogénico. Además de presentar durante el ensayo autobiográfico con DPPH la mayor intensidad de la mancha (+++) comparada con el control quercetina (+++).

Cabe mencionar que existen estudios realizados en diferentes especies del género *Ormosia* en donde se reportan la presencia de flavonoides y en algunos casos se describe su relación con la actividad antioxidante (Fenga *et al.* 2012).

Linuma *et al* 1994 ) Es importante mencionar que desde hace años existen evidencias que reportan que varias especies del genero *Ormosia* son ricos en fitoquimicos de tipo alcaloide (Mclean *et al* 1972 Lloyd *et al* 1960 Hassal *et al* 1964 Clarke *et al* 1960 Clarke *et al* 1963 Moran *et al* 1959) Por lo tanto el comportamiento favorable del extracto frente a las actividades descritas anteriormente se pudiera deber no solo a la presencia de flavonoides sino tambien a la presencia de sustancias tipo alcaloides

El extracto metanólico de *O coccinea* (Aubl ) Jacks (raquis infrutescencia) en la evaluacion farmacologica presento una intensa analgesia en los animales ensayados Cabe mencionar que otros autores ya habian descrito el efecto analgesico para *O coccinea* (Aubl ) Jacks y para *O dasycarpa* Jacks (Hassal *et al* 1964) Efecto que si bien es cierto solo se observo de manera cualitativa pusiera estar estrechamente relacionado con el buen efecto antioxidante que el extracto mostro durante el ensayo Ademias se observo una conducta agresiva este efecto pudiera tener relacion con lo descrito por otros autores quienes reportan para una especie del genero *Ormosia* acciones farmacologicas a nivel central entre otras (Moran *et al* 1959) Aunque no se observo efectos tóxicos o muerte en los animales a la dosis aguda establecida de 1 000 mg/kg otros autores reportan toxicidad para otras especies del genero *Ormosia* (Li *et al* 1993) Por consiguiente el uso tradicional que se le da a esta planta solo es para la elaboracion de adornos y joyas por tener sus frutos muy coloridos

## CONCLUSIONES

Cabe mencionar que este es el primer cribado sistematico en la busqueda de actividad antimicrobiana farmacologica y antioxidante de extractos metanolicos de plantas de la familia *Fabaceae* de Panama

Una vez terminado el estudio llegamos a las siguientes conclusiones

- 1 El extracto metanolico de la corteza de *Albizia adinocephala* (J D Sm ) Bntt & Rose presento importante actividad antibacteriana frente a *Eschenchia coli* *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* MRSA Asi mismo tuvo actividad antimicotica contra *Penicillium sp* *Aspergillus niger* No presento efectos farmacologicos o toxicologicos en los animales No evidencio la presencia de flavonoides y presento una pobre actividad antioxidante ante el radical DPPH
- 2 El extracto metanolico obtenido a partir de las hojas de *Dalbergia brownei* (Jacq ) Schinz no presento actividad antibacteriana ni actividad antimicotica Al realizar la evaluaciones farmacologicas al extracto metanolico obtenido a partir de las hojas de *Dalbergia brownei* (Jacq ) Schinz no mostro ningun efecto significativo Ademas de que no presentar efectos toxicos Mostró marcada presencia de flavonoides ademas de dar una moderada actividad antioxidante ante DPPH
- 3 El extracto metanolico del tallo de *Diploptropis purpurea* (Rich) Amshoff presento actividad antibacteriana solamente contra *Klebsiella*



*pneumoniae* pero no presento actividad antimicótica. En la evaluación farmacológica mostro una ligera disminución de la actividad motora analgesia pero no se observaron efectos tóxicos. Presencia de flavonoides se evidencio en el extracto metanólico del tallo de *Diplotropis purpure* (Rich) Amshoff. En la evaluación antioxidante el extracto mostro ser eficaz frente a DPPH.

- 4 El extracto metanólico del tallo de *Machaenum sp* inhibio el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y MRSA pero no presento actividad antifúngica. Al realizar la evaluación farmacológica al extracto se produjo en los animales moderada analgesia, no presento ningún efecto de toxicidad. El extracto metanólico del tallo de *Machaenum sp* mostro presencia de flavonoides y una excelente capacidad antioxidante frente a DPPH.
- 5 El extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban solo presento actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis* y no presento actividad antifúngica. Durante la evaluación farmacológica de la raíz de *Macroptilium lathyroides* en extracción metanólica solo se identifico un ligero aumento en la micción. No mostro signos de toxicidad. El extracto metanólico de la raíz de *Macroptilium lathyroides* evidencio la presencia de flavonoides y mostro una moderada actividad antioxidante con DPPH.
- 6 El extracto metanólico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks presento una marcada actividad antibacteriana al inhibir el

crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* MRSA y KPC pero no presento actividad antimicótica En la evaluación farmacológica se observo analgesia y una ligera conducta agresiva en los animales sin presentar efectos toxicos El extracto metanolico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl ) Jacks mostro compuestos de tipo flavonoide ademas de presentar eficacia y una alta potencia antioxidante entre los extractos evaluados

## RECOMENDACIONES

Se recomienda

- 1 Fraccionar los extractos metanolicos de la corteza de *Albizia adinocephala* (J D Sm ) Britt & Rose del raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl ) Jacks y del tallo de *Machaenum sp* ya que fueron los extractos que presentaron la mayor actividad antimicrobiana
- 2 Con respecto a los extractos que mostraron algun grado de actividad frente a MRSA y KPC se recomienda utilizar mas cepas y utilizar ensayos especificos para evidenciar los posibles mecanismos antimicrobianos
- 3 Realizar otros tipos de ensayos para ampliar las propiedades antioxidantes del extracto metanolico del tallo de *Machaenum sp* del extracto metanolico de raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl ) Jacks y del extracto metanolico de las hojas de *Dalbergia brownii* (Jacq ) Schinz ya que fueron los extractos que presentaron la mayor actividad antioxidante
- 4 Realizar ensayos dirigidos para evaluar los efectos observados de manera mas especifica en la evaluacion farmacologica para los siguientes extractos metanolicos del tallo de *Diploptropis purpurea* (Rich) Amshoff del tallo de *Machaenum sp* del raquis de infructescencia de *Ormosia coccinea* (Aubl ) Jacks ya que produjeron analgesia en los animales

**BIBLIOGRAFIA**

- 1 ABDEL M HOCH J BERGER JM EVANS R MILLER JS WISSE J MAMBER S DALTON J y KINGSTON D 2001 Kingston D G I Two Bioactive saponins from *Albizia subdimidiata* from the Suriname rainforest Journal of Natural Products 64 536 539
- 2 ADEDAPO A JIMOH F KODURU S AFOLAYAN A y MASIKA P 2008 Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurnia aurea* BMC Complementary and Alternative Medicine 8 53
- 3 AGRA M FRANÇA P y BARBOSA J 2007 Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in northeast of Brazil Brazilian Journal of Pharmacognosy 17(1) 114 140
- 4 AGRA MF BARACHO GS NURIT K BASILIO IJ y COELHO VP 2007 Medicinal and poisonous diversity of the flora of Cariri Paraibano Brazil J Ethnopharmacol 111(2) 383 395
- 5 ALI M KHAN T y AHMAD Z 1994 Barks used as source of medicine in Madhya Pradesh India Fitoterapia 65(4) 444-451
- 6 ALMEIDA T FONSECA A BRANDAO M MESQUITA T SMANIA J y LEOMAR C 2000 Biological screening of Brazilian medicinal plants Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 95(3) 367 373
- 7 AL MUSAYEIB N MOTHANA R AL MASSARANI S MATHEEUSSEN A COS P y MAES L 2012 Study of the in vitro antiparasitic antileishmanial and antitrypanosomal activities of medicinal plants from Saudi Arabia Molecules 17 11379 11390
- 8 ALVAREZ E y ORALLO F 2003 Actividad biológica de los flavonoides (I) Accion frente al cancer Ambito farmaceutico Bioquimica 10(22)
- 9 ARNOLD HJ y GULUMIAN M 1984 Pharmacopoeia of traditional medicine in Venda J Ethnopharmacol 12(1) 35 74
- 10 ATAWODI SE 2005 Antioxidant potential of African medicinal plants African Journal of Biotechnology 4(2) 128 133
- 11 BADARINATH A MALLIKARJUNA R SUDHANA C RAMKANTH S RAJAN T y GNANAPRAKASH K 2010 A Review on In vitro Antioxidant Methods Comparisons correlations and considerations International Journal of PharmTech Research 2(2) 1276 1285
- 12 BALUNAS M y KINGHORN A 2005 Drug discovery from medicinal plants Life Sciences 78(2005) 431-441

- 13 BARBOZA G CANTERO J NUNEZ C PACCIARONI A y ESPINAR L 2009 Medicinal plants A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora Kurtziana 34(1 2)
- 14 BARREIROS A BARREIROS M DAVID JM DAVID JP y QUEIROZ LP 2003 Atividade antioxidante de substâncias presentes em *Dioclea violacea* e *Erythroxylum nummulana* Revista Brasileira de Farmacognosia 13(2) 08 11
- 15 BASSOI L PEREIRA L FETT NETO G FILGUEIRA W DE SOUZA I PALMA M CALIXTO J FILHO S DOS SANTOS R PEREIRA M y SANTOS D 2005 The use of biodiversity as source of new chemical entities against defined molecular targets for treatment of malaria tuberculosis and T cell mediated diseases A review Mem Inst Oswaldo Cruz 100(6)
- 16 BERGEY DH y HOLT JG 2000 Bergey's manual of determinative bacteriology Ed Philadelphia 540 589
- 17 BESRA S E GOMES A CHAUDHURY L VEDASIROMONI J R y GANGULY D K 2002 Antidiarrhoeal activity of seed extract of *Albizia lebbek Benth* Phytotherapy Research 16(6) 529 33
- 18 BEYRA M y REYES G 1981 El genero *Macroptilium* (Benth) Urb (Leguminosae) en Cuba Anales del Jardín Botánico de Madrid 62(2) 181 190
- 19 BIZIMENYERA E ADEROGBA A J ELOFF A y SWAN A G 2007 Potential of neuroprotective antioxidant based therapeutics from *Peltoporum africanum* Sond (fabaceae) Afr J Trad 4(1) 99 106
- 20 BONIFAZ A 2008 Micología medica basica Editorial MC Graw Hill Mexico 567 pags
- 21 BOUBAKER J BEN MANSOUR H GHEDIRA K y CHEKIR G 2012 Polar extracts from (Tunisian) *Acacia salicina* Lindl Study of the antimicrobial and antigenotoxic activities BMC Complementary and Alternative Medicine 12 37
- 22 BUTLER M 2004 The role of natural product chemistry in drug discovery J Nat Prod 67(12) 2141 2153
- 23 CAKILCIOGLU U KHATUN S TURKOGLU I y HAYTA S 2011 Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig Turkey) J Ethnopharmacol 137(1) 469-86
- 24 CAO S NORRIS A MILLER J RATOVOSON F RAZAFITSALAMA J y ANDRIANTSIFERANA R 2007 cytotoxic triterpenoid saponins of *Albizia gummifera* from the Madagascar rain forest J Nat Prod 70(3) 361 366

- 25 CARRASQUILLA L 2006 Arboles y Arbustos de Panama Editora Novo Art Ciudad de Panama Panama
- 26 CASTANEDA B RAMOS E e IBANEZ V 2008 Evaluation of the antioxidant capacity of seven peruvian medicinal plants Revista Horizonte Medico 8(1) 56 72
- 27 CERQUEIRA G ROCHA N ALMEIDA J DE FREITAS A LIMA E FILHO J DE FREITAS R y MELO M 2011 Antimicrobial activity of the extract of etem bark of *Diplotropis ferruginea* Bent J Young Pharm 3(4) 284 286
- 28 CHAUDHARY A KAUR P KUMAR N SINGH B AWASTHI S y LAL B 2011 Chemical fingerprint analysis of phenolics of *Albizia chinensis* based on ultra performance LC electrospray ionization quadrupole time of flight mass spectrometry and antioxidant activity Nat Prod Commun 6(11) 1617 20
- 29 CHEENPRACHA S KARALAI C PONGLIMANONT C y KANJANA A 2009 Candenatenins A F phenolic compounds from the heartwood of *Dalbergia candenatensis* J Nat Prod 72(8) 1395-8
- 30 CHEW Y L CHAN E W TAN P L LIM Y Y STANSLAS J y GOH J K 2011 Assessment of phytochemical content polyphenolic composition antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia BMC Complement Altern Med 11 12
- 31 CHITTAMURI A CHERUKU A DANDU C y NIMMANAPALLI Y 2012 Studies on a semi arid legume fodder *Macroptilium atropurpureum* (DC ) urban Bio active constituents and antimicrobial activity recommended to the Indian pasture lands Journal of Pharmacy Research 5(5) 2431-40
- 32 CHITTAMURI B 2003 Bio functional legumes with nutraceutical pharmaceutical and industrial uses Economic Botany 57(2) 254 261
- 33 CLARDY J y WALSH C 2004 Lessons from natural molecules Nature 432 829-837
- 34 CLARKE R T y GRUNDON M F 1960 The alkaloids of *Ormosia dasycarpa* Jacks J Chem Soc 41-42
- 35 CLARKE R T y GRUNDON M F 1963 *Ormosia* alkaloids Part II Dasycarpine J Chem Soc 535 539
- 36 CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE 2009 Methods for dilution anti microbial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically 8th edition 29(2)
- 37 COE F G y ANDERSON G J 1996a Ethnobotany of the garifuna of Eastern Nicaragua Economic Botany 50(1) 71 107



- 38 COE F G y ANDERSON G J 1996b Screening of medicinal plants used by the Garifuna of eastern Nicaragua for bioactive compounds J Ethnopharmacol 53(1) 29 50
- 39 CORDELL G 2000 Biodiversity and drug discovery a symbiotic relationship Phytochemistry 55(6)463-480
- 40 CORDIES L MACHADO L y HAMILTON M 1998 Principios generales de la terapeutica antimicrobiana ACTA MEDICA 8(1) 13 27
- 41 CORREA M D FOSTER R GALDAMES C y STAPF M S 2004 Catalogo de plantas vasculares de Panama Novo Art Bogota Colombia 2004 1-6
- 42 COWAN M 1999 Plant products as antimicrobial agents Clinical microbiology 12(4) 564-582
- 43 CRAGG G M NEWMAN D J y SNADER K M 1997 Natural products in drug discovery and development Journal of Natural Products 60(1) 52 60
- 44 CUERVO J 2010 Aislamiento y caracterizacion de *Bacillus sp* como fijadores biologicos de nitrogeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales Tesis Pontificia Universidad Javeriana Bogota Colombia 28 pags
- 45 DE ALMEIDA T FONSECA A BRANDAO M SUELI T GRANDI M SMANIA E SMANIA A y LEOMAR C 2000 Biological screening of Brazilian medicinal plants Mem Inst Oswaldo Cruz 95(3) 367 373
- 46 DE CASSIA R GOMES L DE FARIAS F BHATTACHARYYA J y NOBREGA R 2010 Antinociceptive and toxicological effects of dioclea grandiflora seed pod in mice Journal of Biomedicine and Biotechnology 2010 ID 606748
- 47 DE FARIA S DIEDHIOU A DE LIMA H RIBEIRO R GALIANA A y CASTILHO A 2010 Evaluating the nodulation status of leguminous species from the Amazonian forest of Brazil Journal of Experimental Botany 61(11) 3119-3127
- 48 DE SOUZA M L CAVAD B S MOREIRA A OLIVEIRA J RIBEIRO A y A FLORES 1997 Anti inflammatory effect of glucose mannose binding lectins isolated from Brazilian beans Mediators Inflamm 6(3) 201-210
- 49 DI STASI L y HIRUMA LIMA C 2002 Plantas medicinais na Amazonia e na Mata Atlantica Ed UNESP Sao Paulo Brasil 604 pags
- 50 DIAZ L DE MONTIJO S MEDINA A MELENDEZ P LAURENCE V y MARTI G 2011 Activity of ethanolic extracts leaves of *Machaenium floribundum* against acne inducing bacteria and their cytoprotective and

- antioxidant effects on fibroblast *Revista Peruana de Biología* 18(2) 153-158
- 51 DICKSON R A E KUADZI E ANNAN K y KOMLAGA G 2011 Antibacterial anti inflammatory and antioxidant effects of the leaves and stem bark of *Glyphaea brevis* (Spreng) Monachino (Tiliaceae) A comparative study *Pharmacognosy Research* 3(3) 166-172
- 52 DRASAR B S y HILL M J 1974 Human intestinal flora Academic Press London UK
- 53 DUKE J A 1994 Amazonian ethnobotanical dictionary Book USA 181 pags
- 54 EDZIRI H MASTOURI M MOHAMED A ZINE M AOUNI M y LUC V 2012 Antibacterial antifungal and cytotoxic activities of two flavonoids from *Retama raetam* flowers *Molecules* 17 7284-7293
- 55 ELDEEN I VAN HEERDEN F y VAN STADEN J 2010 In vitro biological activities of niloticane a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica* subsp *kraussiana* *J Ethnopharmacol* 128(3) 555-60
- 56 ELDEEN I M VAN HEERDEN F R y VAN STADEN J 2010 In vitro biological activities of niloticane a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica* subsp *kraussiana* *J Ethnopharmacol* 128(3) 555-60
- 57 ESPERT S y BURGHARDT A 2010 Biogeography and divergence times of genus *Macroptilium* (Leguminosae) *AoB PLANTS* 2010 plq018
- 58 FABRICANT D y FARNSWORTH N 2001 The value of plants used in traditional medicine for drug discovery *Environ Health Perspect* 109(1) 69-75
- 59 FARIAS D F CAVALHEIRO M G VIANA M P QUEIROZ V A ROCHA BEZERRA L C VASCONCELOS I M MORAIS S M y CARVALHO A F 2010 Water extracts of Brazilian leguminous seeds as rich sources of larvicidal compounds against *Aedes aegypti* L *An Acad Bras Cienc* 2(3) 585-94
- 60 FENG S HAO J XU Z CHEN T y QIU S X 2012 Polyprenylated isoflavanone and isoflavonoids from *Ormosia henryi* and their cytotoxicity and anti-oxidation activity *Fitoterapia* 83(1) 161-5
- 61 FERNANDEZ M 2007 Estudio quimico de propoleos rojos cubanos Tesis Universidad de La Habana Cuba 159 pags
- 62 FILIPOY A J 1994 Medicinal plants of the Pilaga of central Chaco *Ethnopharmacol* 44(3) 181-193

- 63 FOCHO D NDAM W y FONGE B 2009 Medicinal plants of Aguambu Bamumbu in the Lebiale highlands southwest province of Cameroon African Journal of Pharmacy and Pharmacology 3(1) 001 013
- 64 GANGAA R MADHUB K y VIJAYAB R 2012 Investigation of antioxidant and anti inflammatory activity of leaves of *Dalbergia paniculata* (Roxb) Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 5(6) 455-458
- 65 GARCIA L GARCIA V ROJO M y SANCHEZ E 2001 Plantas con propiedades antioxidantes Inves Biomed 20(3) 231 5
- 66 GATHUMA J M MBARIA J M WANYAMA J KABURIA H F A MPOKE L y MWANGI J N 2004 Efficacy of *Myrsine africana* *Albizia anthelmintica* and *Hilderbrandtia sepulosa* herbal remedies against mixed natural sheep helminthosis in Samburu district Kenya Journal of Ethnopharmacology 91(1) 7 12
- 67 GHALY N S MELEK F R y ABDELWAHED N 2010 Flavonoids from *Albizia chinensis* of Egypt Rev Latinoam Quim 38(3) 153 158
- 68 GOKANI R RACHCHH M PATEL T LAHIRI S SANTANI D y SHAH M 2011 Evaluation of anti-oxidant activity (*in vitro*) of *Clerodendrum phlomidis* linn f suppl Root Journal of Herbal Medicine and Toxicology 5(1) 47 53
- 69 GONZALEZ J y CALVO A 2005 El despertar de la era antibiotica Rev Esp Quimioterapia 18(3) 247 251
- 70 GUIMARAES P JOSE J GALETTI M y TRIGO J 2003 Quinolizidine alkaloids in *Ormosia arborea* seeds inhibit predation but not hoarding by agoutis (*Dasyprocta leporina*) J Chem Ecol 29(5) 1065-72
- 71 GULATI V HARDING I y PALOMBO E 2012 Enzyme inhibitory and antioxidant activities of traditional medicinal plants potential application in the management of hyperglycemia BMC Complementary and Alternative Medicine 2012(12)
- 72 GUNDIDZA M y GAZA N 1993 Antimicrobial activity of *Dalbergia melanoxylon* extracts J Ethnopharmacol 40(2) 127 30
- 73 HAMBURGER M O CORDELL G A TANTIVATANA P y RUANGRUNGSI N 1987 Traditional medicinal plants of Thailand VIII Isoflavonoids of *Dalbergia candenatensis* J Nat Prod 50(4) 696 9
- 74 HARDMAN J LEE L y GOODMAN & GILMAN S 2006 Las Bases Farmacologicas de la terapeutica Mc Graw Hill Espana 2017 pags
- 75 HASSAL C H y WILSON E M 1964 The isolation and characterisation of the alkaloids of *Ormosia jamaicensis* Urb Journal of the Chemical Society 2657 2663

- 76 HAVINGA R HARTL A PUTSCHER J PREHSLER S BUCHMANN C y VOGL C 2009 *Tamannodus indica* L (Fabaceae) Patterns of use in traditional African medicine J Ethnopharmacol 127(3) 573-88
- 77 HAVINGA R M HARTL A PUTSCHER J PREHSLER S BUCHMANN C y VOGL C R 2010 *Tamarindus indica* L (Fabaceae) patterns of use in traditional African medicine J Ethnopharmacol 127(3) 573-88
- 78 HEDBERG I HEDBERG O MADATI P J MSHIGENI K E MSHIU E N y SAMUELSSON G 1983 Inventory of plants used in traditional medicine in Tanzania Part III Plants of the families Papilionaceae Vitaceae J Ethnopharmacol 9(2-3) 237-60
- 79 HERNANDEZ E GUTIERREZ M RUBINOS J y ALVARADO J 2006 Caracterización del suelo y plantas de un sitio contaminado con hidrocarburos TERRA Latinoamericana 24(4) 463-470
- 80 IGNOATO M FABRAO R SCHUQUEL I BOTELHO M BANNWART G POMINI A ARRUDA L BERSANI AMADO C y SANTIN S 2012 Chemical constituents of *Machaenum hirtum* Vell (Fabaceae) leaves and branches and its anti-inflammatory activity evaluation Nad Prod Res 2012 1-6
- 81 JACKSON R ALMEIDA J M BARBOSA F ANALUCIA G CABRAL A AGRAA MARIA LEITAO D C DA SILVA M y SILENE C 2005 Diploflavone a new flavonoid from *Diploptropis ferruginea* Benth (Fabaceae) J Braz Chem 16 (6B) 1454-1457
- 82 JOLY L GUERRA S SEPTIMO R SOLIS P CORREA M GUPTA M LEVY S y SANDBERG F 1987 Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymí Indians in western Panama Part I J Ethnopharmacol 20(2) 145-71
- 83 JORAY M DEL ROLLAN M RUIZ G PALACIOS S y CARPINELLA M 2011 Antibacterial activity of extracts from plants of Central Argentina Isolation of an active principle from *Achyrocline satureioides* Planta Med 77(1) 95-100
- 84 JORAY M B DEL ROLLAN M R RUIZ G M PALACIOS S M y CARPINELLA M C 2011 Antibacterial activity of extracts from plants of central Argentina isolation of an active principle from *Achyrocline satureioides* Planta 77(1) 95-100
- 85 JOYCHARAT N THAMMAVONG S LIMSUWAN S HOMLAEAD S VORAVUTHIKUNCHAI S YINGYONGNARONGKUL B DEJADISAI S y SUBHADHIRASAKUL S 2013 Antibacterial substances from *Albizia myriophylla* wood against cariogenic *Streptococcus mutans* Arch Pharm Res 36(6) 723-30

- 86 JUDD W CAMPBELL C KELLOGG E STEVENS P y DONOGHUE M 2012 Plant Systematics a Phylogenetic Approach Sistematic Biology 53(3) 517 518
- 87 KAEWPIBOON C LIRDPRAPAMONGKOL K SRISOMSAP C WINAYANUWATTIKUN P YONGVANICH T PUWAPRISIRISAN P SVASTI J y ASSAVALAPSAKUL W 2012 Studies of the in vitro cytotoxic antioxidant lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants BMC Complementary and Alternative Medicine 12 217
- 88 KALE M MISAR A DAVE V JOSHI M y MUJUMDAR A 2007 Anti inflammatory activity of *Dalbergia lanceolata* bark ethanol extract in mice and rats J Ethnopharmacol 112(2) 300-4
- 89 KAVISHANKAR G B LAKSHMIDEVI N MAHADEVA N PRAKASH H S y NIRANJANA S R 2011 Diabetes and medicinal plants A review Int J Pharm Biomed Sci 2011(2) 65-80
- 90 KEARNS A WHELAN J YOUNG S ELTHON T y DAY D 1992 Tissue Specific Expression of the alternative oxidase in Soybean and Siratro Plant Physiol 99 712 717
- 91 KHALID S SHAIK M W ISRAF D A HASHIM P SHABERI A M MOHAMAD A S ZAKARIA Z A y SULAIMAN M R 2010 In vivo analgesic effec of aqueous extrac of *Tamannus indica* L fruits Med Pract 19 255 259
- 92 KINGHORN A PAN L FLETCHER J y CHAI H 2011 The relevance of higher plants in lead compound discovery programs J Nat Prod 74(6) 1539 1555
- 93 KONATE K HILOU A MAVOUNGOU J LEPENGUE A SOUZA A BARRO N DATTE J MBATCHI B y NACOULMA O 2012 Antimicrobial activity of polyphenol rich fractions from *Sida alba* L (Malvaceae) against co trimoxazol resistant bacteria strains 11 5
- 94 KUMAR R SIVAKUMAR T SUNDERAM R GUPTA M MAZUMDAR U GOMATHI P RAJESHWAR Y ARAVANAN S KUMAR M MURUGESH K y KUMAR K 2005 Antioxidant and antimicrobial activities of *Bauhinia racemosa* L stem bark Braz J Med Biol 38(7) 1015 24
- 95 KUMARI A y KAKKAR P 2008 Screening of antioxidant potential of selected barks of Indian medicinal plants by multiple in vitro assays Biomedical and Environmental Sciences 21(2008) 24 29
- 96 KUMARIA A YADAVA S PAKADEB Y KUMARA V SINGHC B CHAUDHARYC A y YADAVA S 2011 Nanoencapsulation and characterization of *Albizia chinensis* isolated antioxidant quercitrin on PLA nanoparticles Colloids and Surfaces B Biointerfaces 82(1) 224-232

- 97 LAU C S CARRIER D J BEITLE R R BRANSBY D I HOWARD L R LAY J O LIYANAGE R y CLAUSEN E C 2007 Identification and quantification of glycoside flavonoids in the energy crop *Albizia julibrissin* Bioresource Technology 98(2) 429-435
- 98 LI E Y ROJAS I 1993 Estudio toxicológico de las semillas de *ormosia macrocalyx* ducke (huayruros) Determinación de la DL50 Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica 1993 70
- 99 LIMA J PAGANI E RAMOS J y RODRIGUES E 2012 Observations on the therapeutic practices of riverine communities of the Source Department of Psychobiology UNIFESP/EPM Brazil J Ethnopharmacol 142(2) 503 15
- 100 LIMA L ALMEIDA J BARBOSA JM ASSISAT SILVA BRAZ FILHOD R y SILVA B 2005 Spasmolytic action of diplotropin a furanoflavan from *Diplotropis ferruginea* Benth Involves Calcium Blockade in Guinea Pig Ileum Z Naturforsch 60b 1093 1100
- 101 LING Y WAN E LING T YAN Y STANSLAS J y GOH K 2011 Assessment of phytochemical content polyphenolic composition antioxidant and antibacterial activities of *Leguminosae* medicinal plants in Peninsular Malaysia BMC Complementary and Alternative Medicine 11 12
- 102 LINUMA M OKAWA Y TANAKA T HO F C KOBAYASHI Y y MIYAUCHI K I 1994 Anti-oral microbial activity of isoflavonoids in root bark of *Ormosia monosperma* Phytochemistry 37(3) 889 91
- 103 LLOYD H A y HORNING E C 1958b Isolation of N Methycytisine from *Ormosia stipitata* Schery J Org Chem 23(7) 1074 1075
- 104 LLOYD H A y HORNING E C 1958a Alkaloids of *Ormosia panamensis* Benth and related species J Am Chem Soc 80(6) 1506-1510
- 105 LLOYD H A y HORNING E C 1960 Alkaloids of *Ormosia jamaicensis* (Urb ) Jamaicensine and Jamaidine J Org Chem 25(11) 1959 1962
- 106 LÓPEZ V AKERRETA S CAVERO R y CALVO M 2007 Actividad antioxidante de plantas empleadas en la medicina tradicional Navarra Revista de Fitoterapia 7(1) 43-47
- 107 LOUSTALOT A y PAGAN C 1949 Local 'fever' plants tested for presence of alkaloids Chemical abstracts 3(5) 3
- 108 LUA J LIN P YAO Q y CHEN C 2010 Chemical and molecular mechanisms of antioxidants Experimental approaches and model systems J Cell Mol Med 14(4) 840-860
- 109 MACKEEN M M ALI A M EL SHARKAWY S H MANAP M Y SALLEH K M LAJIS N H y KAWAZU K 1997 Antimicrobial and

- cytotoxic properties of some malaysian traditional vegetables (Ulam)  
Pharmaceutical Biology 35(3) 174-178
- 110 MACRINI D BARBOSA I DRAUZIO A NAIM R y TABA M 2009  
Extracts from Amazonian plants have inhibitory activity against tyrosinase  
an *in vitro* evaluation Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 45(2)
  - 111 MARIITA R ORODHO J A OKEMO P y MBUGUA P K 2010  
Antifungal antibacterial and antimycobacterial activity of *Entada*  
*abysinnica* Steudel ex A Rich (Fabaceae) methanol extrat  
Pharmacognosy Res 2010 May Jun 2(3) 163–168
  - 112 MARTINEZ J A y SANCHEZ B F 2007 Mecanismo de accion de los  
antibioticos JANO on line 1660 28-34
  - 113 MATEOS P 2010 Agentes antimicrobianos y microorganismos Tema 20  
En Departamento de Microbiologia y Genetica Facultad de Farmacia  
Universidad de Salamanca [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua\\_cuba/a3\\_agentes\\_antimicrobianos\\_y\\_microorganismos.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua_cuba/a3_agentes_antimicrobianos_y_microorganismos.pdf)
  - 114 MAYOR R 2012 Oxidative stress and antioxidant defense system  
Instituto Medico Tropical 5(2) 23-29
  - 115 MCLEAN S ROY M L LIU H J y CHU D T 1972 The alkaloids of  
*Ormosia semicastrata* (–)-ormosanine (+) piptanthine (–) 18  
epiormosanine and ( ) ormocastine Canadian Journal of Chemistry 50  
(11)
  - 116 MEENAKSHI S SAYYADA K SHWETA S VIVEK KUMAR A AJAY  
KUMAR S y SHANTA M 2010 Antimicrobial screening of  
ethnobotanically important stem bark of medicinal plants Pharmacognosy  
Res 2(4) 254–257
  - 117 MELÉNDEZ A 2009 Synopsis of the genus *Machaenum Pers*  
(*Leguminosae–Papilionoideae–Dalbergieae*) in Venezuela acta bot  
venez 32(2) 363–416
  - 118 MENG Q NIU Y NIU X ROUBIN R y HANRAHAN J 2009  
Ethnobotany phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana*  
used in traditional Chinese medicine J Ethnopharmacol 124 (3) 350–68
  - 119 MENG Q NIU Y NIU X ROUBIN R H y HANRAHAN J R 2009  
Ethnobotany phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana*  
used in traditional Chinese medicine J Ethnopharmacol 124(3) 350–68
  - 120 MOHAGHEGHZADEH A FARIDI P SHAMS ARDAKANI M y  
GHASEMI Y 2006 Medicinal smokes J Ethnopharmacol 108(2) 161–84
  - 121 MOLARES S y LADIO A 2012 The usefulness of edible and medicinal  
*Fabaceae* in Argentine and Chilean Patagonia Environmental  
Availability and Other Sources of Supply Evidence-Based  
Complementary and Alternative Medicine (12) 1-12



- 122 MORAN N C QUINN GP y BUTLER W M 1959 *Ormosia panamensis* J Pharmacol Exp Ther 125(1) 73 84
- 123 MORRIS B 2003 Legumes Encyclopedia of food and culture Ed Solomon H Katz vol 3 New York
- 124 MUHAMMAD I LI X C DUNBAR D C ELSOHL Y MA y KHAN I A 2001 Antimalarial (+) trans hexahydrodibenzopyran derivatives from *Machaenum multiflorum* Natural Products Research 64(10) 1322 5
- 125 MUHAMMAD ILIAS LI X JACOB M TEKWANI B DUNBAR D y FERREIRA D 2003 Antimicrobial and antiparasitic (+) trans hexahydrodibenzopyrans and analogues from *Machaenum multiflorum* J Nat Prod 66 (6) 804 9
- 126 MURILLO E LOMBO O TIQUE M y MENDEZ J 2007 Antioxidant Potential of *Bauhinia Kalbreyeri Harms* Informacion Tecnologica 8(6) 65 74
- 127 MURPHY M 1999 Plant Products as Antimicrobial Agents Clinical Microbiology Reviews 12(4) 564–582
- 128 NAPRALERT Base de Datos Science Finder
- 129 NARVAEZ MASTACHE J SOTO C y DELGADO G 2007 Antioxidant evaluation of *eysenhardtia* species (*Fabaceae*) relay synthesis of 3 O acetyl 11a 12a-epoxy-oleanan 28 13b olide isolated from *E platycarpa* and its protective effect in experimental diabetes Biol Pharm Bull 30(8) 1503 10
- 130 NEWMAN D CRAGG G y SNADER K 2003 Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002 J Nat Prod 66 (7) 1022–1037
- 131 NIELSEN T KUETE V JAGER A MEYER J y LALL N 2012 Antimicrobial activity of selected South African medicinal plants BMC Complement Altern Med 12 74
- 132 NOUMESSING C NGWA A FOMEKONG G y OBEN J 2009 Antioxidant Properties and  $\alpha$  amylase inhibition of terminalia superba *Albizia sp* *Cola nitida* *Cola odorata* and *Harungana madagascarensis* used in the management of diabetes in cameroon Journal of Health Science 55 (5) 732 738
- 133 OLIVER BEVER 1986 Medicinal plants in tropical west Africa Cambridge University Press Great Britain
- 134 OLIVIER M RENAULT J H RICHARD B MORETTI C y ZECHES HANROT M 2001 Constituents of the stem bark of *Ormosia wayana* Fitoterapia 72(5) 583–4

- 135 OLLIS W D REDMAN B T ROBERTS R J SUTHERLAND I O y GOTTlieb O R 1968 New neoflavanoids from *Machaenum kuhlmannii* and *Machaenum nictitans* and the recognition of a new neoflavanoid type the neoflavenes Chem Commun (London) 1392 1393
- 136 OLMEDO D A MORENO A S MARRONE N S ESPINOSA A F GUERRA C P LÓPEZ PEREZ J L y GUPTA M P 2012 Identificación de isoflavonoides en plantas de la familia leguminosae XIV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ciudad del Saber Clayton Panama Republica de Panama P 56
- 137 ORTIZ B 1975 Empirical aztec medicine Science 188(4185) 215-20
- 138 ORTIZ H SANCHEZ W MENDEZ J y MURILLO E 2009 Antioxidant potential of leaves and bark of *Bauhinia kalbreyen* harms Contribution of their flavonoids in this activity Acad Colomb Cienc 33(127) 183 191
- 139 OUATTARA M KIENDREBEOGO M COMPAORE J MILLOGO RASOLODIMBY J y NACOUUMA 2011 Phytochemical antibacterial and antioxidant investigations of *Sesbania rostrata* Dc (Fabaceae) extracts from leaves stems granulates pods and roots Current Research Journal of Biological Sciences 3(6) 606-611
- 140 OVENDEN S P CAO S LEONG C FLOTOW H GUPTA M P BUSS A D y BUTLER M S 2002 Spermine alkaloids from *Albizia adinocephala* with activity against *Plasmodium falciparum* plasmeprin II Phytochemistry 60(2) 175 7
- 141 PÁRAMO L LOMONTE B PIZARRO J BENGOCHEA A GORVEL J y MORENO E 1998 Bactericidal activity of Lys49 and Asp49 myotoxic phospholipases A2 from *Bothrops asper* snake venom Eur J Biochem 253 452-461(1998) 452-461
- 142 PAREDES F y ROCA J J 2004 Acción de los antibióticos perspectiva de la medicación antimicrobiana Ambito Farmacéutico Farmacología 23(3) 116 24
- 143 PATEL D K KUMAR R LALOO D y HEMALATHA S 2012 Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus An overview of its pharmacological aspects Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2(3) 239 250
- 144 PATRICK R MURRAY K y ROSENTHAL M 2009 Microbiología médica Elsevier Sexta edición Mexico
- 145 PEREIRA X GUEDES J SUASSUNA A LUCIO C BARBOSA J COELHO D LÓPEZ J y DAVID J 2007 Atividade antioxidante de flavonoides isolados de *Diploptropis ferruginea* Benth (Fabaceae) 30a Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Química

- 146 PRESCOTT HARLEY Y KLEIN 2008 Microbiologia McGrawHill Espana 1088 pags
- 147 PREZA A JARAMILLO M PUEBLA A MATEOS J HERNANDEZ R y LUGO E 2010 Antitumor activity against murine lymphoma L5178Y model of proteins from cacao (*Theobroma cacao* L ) seeds in relation with in vitro antioxidant activity BMC Complementary and Alternative Medicine 10 61
- 148 QUAVE C L PLANO L R y BENNETT B C 2011 Quorum sensing inhibitors of *Staphylococcus aureus* from Italian medicinal plants Planta Med 77(2) 188 95
- 149 RABE T y VAN STADEN J 1997 Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes J Ethnopharmacol 56(1) 81 7
- 150 RAJKUMAR T SATHEESH E y SINHA B 2012 Evaluation of antioxidant properties of *Albizia amara* leaves Int J Adv Pharm Biol Sci 2(1) 99 106
- 151 RAJURKAR N y HANDE S 2011 Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants Indian J Pharm Sci 73(2) 146 151
- 152 RAMO L LOMONTE B PIZARRO J BENGOCHEA J GORVEL J y MORENO E 1998 Bactericidal activity of Lys49 and Asp49 myotoxic phospholipases A2 from Bothrops asper snake venom Eur J Biochem 253 4522461
- 153 RANDRIAMAMPIANINA L OFFROY A MAMBU L RANDRIANARIVO R RAKOTO D JEANNODA V DJEDIAT C PUISEUX DAO S y EDERY M 2012 Marked toxicity of *Albizia bernierii* extracts on embryo larval development in the medaka fish (*Oryzias latipes*) Toxicon 31(64) 29 35
- 154 RAO Y K REDDY M V B RAO C V DUVVURU G BLOND A CAUX C y BODO B 2003 Two New 5 deoxyflavones from *Albizia odoratissima* Chemical and Pharmaceutical Bulletin 5 1271 1272
- 155 RASTOGI S PANDEY M y RAWAT A 2011 An ethnomedicinal phytochemical and pharmacological profile of *Desmodium gangeticum* (L ) DC and *Desmodium adscendens* (Sw ) DC J Ethnopharmacol 136(2) 283 96
- 156 RASTOGI S PANDEY M M y RAWAT A K 2011 An ethnomedicinal phytochemical and pharmacological profile of *Desmodium gangeticum* (L ) DC and *Desmodium adscendens* (Sw ) DC J Ethnopharmacol 136(2) 283 96
- 157 RIOS J L y RECIO M C 2005 Medicinal plants and antimicrobial activity Journal of Ethnopharmacology 100(2005) 80–84

- 158 ROJAS F y TORRES G 2009 Arboles del Valle Central de Costa Rica reproduccion Kuru Revista Forestal (Costa Rica) 6(16)
- 159 ROJAS J OCHOA V OCAMPO S y MUNOZ J 2006 Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine a possible alternative in the treatment of non nosocomial infections BMC Complement Altern Med 17(6) 2
- 160 ROJAS J J OCHOA V J OCAMPO S A y MUNOZ J F 2006 Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine a possible alternative in the treatment of non nosocomial infections BMC Complement Altern Med 6 2
- 161 SAMOYLENKO V JACOB M KHAN S ZHAO J TEKWANI B MIDIWO J WALKER L y MUHAMMAD I 2009 Antimicrobial antiparasitic and cytotoxic spermine alkaloids from *Albizia schimpenaria* Nat Prod Commun 4(6) 791-6
- 162 SANGETHA S ZURAINI Z SASIDHARAN S y SURYANI 2008 fungicidal efect and oral acute toxicity of *Cassia spectabilis* leaf extract Jpn J Med Mycol 49 299 304
- 163 SANTOS A 2006 Atividade antioxidante de extratos vegetais da flora brasileira estudo com ressonancia paramagnetica eletronica (RPE) e teoria do funcional da densidade (TFD) Tesis Universidad de San Pablo (USP) Brasil
- 164 SCARTEZZINI P y SPERONI E 2000 Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity Journal of Ethnopharmacology 71(2000) 23-43
- 165 SEIJA V y VIGNOLI R 2008 Principales grupos de antibioticos Cap 34 En Temas de bacteriologia y virologia medica 631-647 <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf>
- 166 SEO E K KIM N C MI Q CHAI H WALL M E WANI M C NAVARRO H A y BURGESS J P 2001 Macharistol a new cytotoxic cinnamylphenol from the stems of *Machaenium aristulatum* J Nat Prod 64(11) 1483 5
- 167 SEPULVEDA A GEISSEN V OCHOA S SANCHEZ A DE LA CRUZ S CAPETILLO E y ZAMORA L 2009 Influence of three types of riparian vegetation on fluvial erosion control in Pantanos de Centla Mexico Rev Biol Trop 57(4) 1153-63
- 168 SEPULVEDA A GEISSEN V OCHOA S SÁNCHEZ J DE LA CRUZ S CAPETILLO E y ZAMORA L 2009 Influence of three types of riparian vegetation on fluvial erosion control in Pantanos de Centla Mexico Rev Biol Trop 57(4) 1153-63

- 169 SOHLY H N JOSHI A S y NIMROD A C 1999 Antigiardial isoflavones from *Machaerium aristulatum* Planta Med 65(5) 490
- 170 SRINIVASAN S y SARADA D 2012 Antifungal activity of phenyl derivative of pyranocoumarin from *Psoralea corylifolia* L seeds by inhibition of acetylation activity of trichothecene 3-o acetyltransferase (Tr101) Journal of Biomedicine and Biotechnology
- 171 STEINRUT L ITHARAT A y RUANGNOO S 2011 Free radical scavenging and lipid peroxidation of Thai medicinal plants used for diabetic treatment J Med Assoc Thai 7 178 82
- 172 SU B BANG H CHAI H CARCACHE BLANCO E KARDONO L y AFRIASTINI J 2004 Activity guided fractionation of the leaves of *Ormosia sumatrana* using a proteasome inhibition assay J Nat Prod 67 1911 1914
- 173 SUDARSHAN S BOTHARA S B y PATEL R 2010 Pharmaceutical characterization of some natural excipient as potential mucoadhesives agent The Pharma Research 4 91 104
- 174 SUFFREDINI I B SADER H S GONÇALVES A G REIS A O GALES A C y VARELLA A D 2004 Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rain forest and atlantic forest Brazilian Journal of Medical Biological Research 37(3) 379 84
- 175 SULAIMAN C y BALACHANDRAN I 2012 Total phenolics and total flavonoids in selected Indian medicinal plants Indian J Pharm Sci 74(3)
- 176 TAMOKOU J SIMO D KEILAH L TENE M TANE P y KUIATE J 2012 Antioxidant and antimicrobial activities of ethyl acetate extract fractions and compounds from stem bark of *Albizia adianthifolia* (Mimosoideae) BMC Complement Altern Med 18(12) 99
- 177 TOGOLA A AUSTARHEIM I THEIS A DIALLO D y PAULSEN B S 2008 Ethnopharmacological uses of *Erythrina senegalensis* a comparison of three areas in Mali and a link between traditional knowledge and modern biological science J Ethnobiol Ethnomed 4 6
- 178 TOGOLA A DIALLO D DEMBELE S BARSETT H y PAULSEN B S 2005 Ethnopharmacological survey of different uses of seven medicinal plants from Mali (West Africa) in the regions Doila Kolokani and Siby J Ethnobiol Ethnomed 1 7
- 179 TORRES COLÍN L FUENTES SORIANO S y DELGADO SALINAS A 2010 Estudio palinológico del genero *Macroptilium* (Benth) Urb (Leguminosae) en Mexico y Centroamerica Acta Botanica Mexicana 91 51-69
- 180 VELAZCO E NIEVES B ARAQUE M y CALDERAS Z 2002 Epidemiologia de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus*

- en una unidad de alto riesgo neonatal *Enferm Infecc Microbiol Clin* 20(7) 321-5
- 181 VENEREO J 2002 Dano oxidativo radicales libres y antioxidantes *Revista cubana militar* 31(2) 126-36
- 182 WAGNER H y BLANDT S 2001 A thin layer chromatography atlas Photographs by V Rickl *Plant Drug Analysis* 195-244
- 183 WANG A DUESLER E THAYER N HECKENDORN RINEHART R y PAUL I 1978 Homodasycarpine an *Ormosia alkaloid* *Acta Cryst B* 34 2319-2321
- 184 WANGA C WENGB X y CHENGA D 2000 Antioxidant activities of natural phenolic components from *Dalbergia odorifera* T *Food Chemistry* 71(1) 45-49
- 185 WEBER D STERNER O ANKE T GORZALCZANCY S MARTINO V y ACEVEDO C 2004 Phomol a new antiinflammatory metabolite from an endophyte of the medicinal plant *Erythrina crista-galli* *J Antibiot (Tokyo)* 57(9) 559-63
- 186 WECKERLE C S CABRAS S CASTELLANOS M E y LEONTI M 2011 Quantitative methods in ethnobotany and ethnopharmacology considering the overall flora -hypothesis testing for over and underused plant families with the Bayesian approach *Ethnopharmacol* 137(1) 837-43
- 187 WENIGER B HAAG BERRURIER M y ANTON R 1982 Plants of Haiti used as antifertility agents *J Ethnopharmacol* 6(1) 67-84
- 188 WILLIAMS R S MILLER R y GANGSTAD J 2001 Characteristics of ten tropical hardwoods from certified forests in Bolivia Part I Weathering characteristics and dimensional change *Wood and fiber science* 33(4) 618-626
- 189 WOJCIECHOWSKI M MATT L y SANDERSON M 2004 Phylogeny of legumes (leguminosae) based on analysis of the plastid *matk* gene resolves many well supported subclades within the family *American Journal of Botany* 91(11) 1846-1862
- 190 XUE L WEI R TAN T KUANG L y WEI M 2003 Nutrient characteristics in leaves of broadleaved seedlings in south China *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 14(11) 1820-4
- 191 YAMAMOTO K OGURI S YOSHIE S y MOMONOKI Y 2008 Characterization of trimeric acetylcholinesterase from a legume plant *Macroptilium atropurpureum* *Urb Planta* 227(4) 809-22
- 192 YOSHIKAWA M MORIKAWA T NAKANO K PONGPIRIYADACHA Y MURAKAMI T y MATSUDA H 2002 Characterization of new sweet

triterpene saponins from *Albizia myriophylla* *Journal of Natural Products* 65(11) 1638–1642

- 193 YUA X WANG B W y YANG A M 2007 Antioxidant activities of compounds isolated from *Dalbergia odorifera* T. Chen and their inhibition effects on the decrease of glutathione level of rat lens induced by UV irradiation *Food Chemistry* 104(2) 715–720
- 194 ZALLOCCI E M y POMILIO A B 1994 Evolution of flavonoids in the phaseolinae *Phytochemistry* 37(2) 449–53



## INFOGRAFIA

- 1 Fotografía de *Albizia adinocephala* Tomada por Carmen Galdames Herbario de la Universidad de Panamá  
<http://herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/galeria/family/Fabaceae-Mimosoideae?page=2>
- 2 Fotografía de *Dalbergia brownii* Tomada por Reinaldo Aguilar Instituto Los Charcos de Osa <http://www.flickr.com/photos/plantaspinunsulaosa/6606531977/>
- 3 Fotografía de *Diploptropis purpurea* Tomada por Rolando Perez Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) en Panamá  
<http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/dfm/metas/view/17765>
- 4 Fotografía de *Machaenum sp*  
<http://www.ciens.ucv.ve/arboretum/frutos.html>
- 5 Fotografía de *Macroptilium lathyroides*  
<http://www.starrenvironmental.com/images/image/?q=0909266774&o=plants>
- 6 Fotografía de *Ormosia coccinea* <http://delicadesa.com/?p=519>

## ANEXO 1

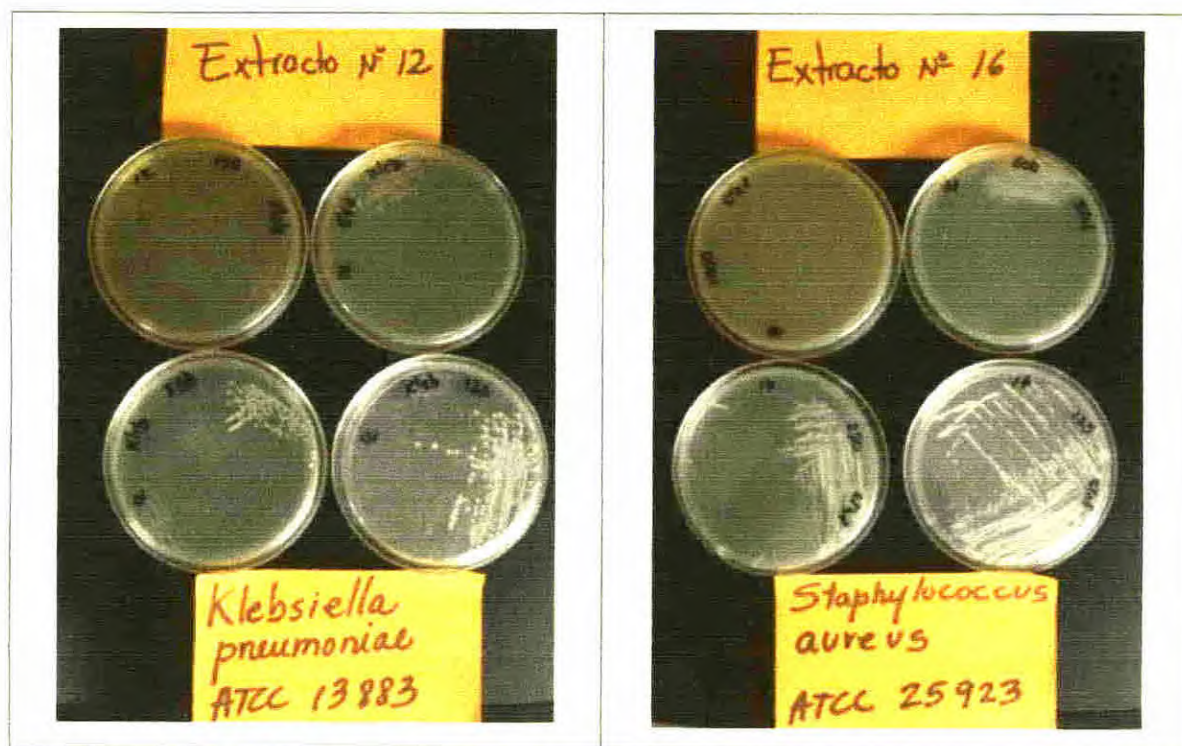
## FORMATO PARA LA EVALUACIÓN DEL SCREENING HIPOCRÁTICO

Nombre y No del extracto: \_\_\_\_\_ Vol. Administrado: \_\_\_\_\_  
 Fecha de inicio: \_\_\_\_\_ Hora de inicio: \_\_\_\_\_  
 Fecha del terminó: \_\_\_\_\_ Hora de Finalización: \_\_\_\_\_  
 Espécimen biológico: \_\_\_\_\_ Animal #: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Parámetros a evaluar	Tiempos de medición							
	0	15	30	60	2	6	24	48
1. Actividad Motora								
2. Ataxia								
3. Pérdida del reflejo de enderezamiento								
4. Analgesia								
5. Anestesia								
6. Catalepsia								
7. Conducta Agresiva								
Pasiva								
8. Frecuencia respiratoria								
9. Amplitud Respiración								
10. Parálisis Pata Anterior								
Pata Trasera								
11. Temblores Finos								
Fuertes								
12. Fasciculaciones								
13. Convulsiones Tónicas								
Clónicas								
Mixtas								
14. Respuesta estereotipada								
15. Cola Staub								
16. Piloerección								
17. Piel Palidez								
Hiperemia								
Cianosis								
18. Ptosis palpebral								
19. Efectos Oculares								
Exoftalmia								
Enoftalmia								
20. Pérdida del reflejo corneal								
21. Pérdida del reflejo pineal								
22. Tamaño de la pupila								
23. Nistagmo								
24. Lacrimación								
25. Cromolacrioreja								
27. Salivación								
28. Micción								
27. Defecación								
30. Diarrea								
31. Actividad prensil Pata anterior								
Pata trasera								
32. Priapismo								
33. Signo de Robichaud								
34. Temerosidad								
35. Temperatura rectal								
36. Contorciones abdominales								
37. Vocalización								
38. Muerte								
39. Autopsia (aspectos generales)								
40. Otras observaciones								

## ANEXO 2

## FOTOGRAFÍAS



**Fotografía A.** Resultados del tamizado antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Machaerium* sp. para *K. pneumoniae*.

**Fotografía B.** Resultados del tamizado antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *A. adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose para *S. aureus*.





**Fotografía C.** Resultados del tamizado antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks para *P. aeruginosa*.



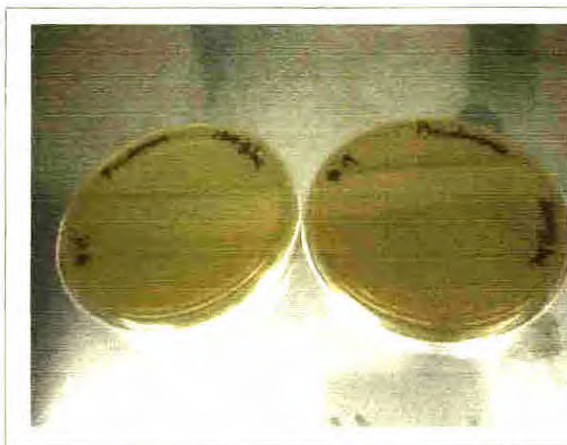
**Fotografía D.** Resultados del tamizado antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban para *B. subtilis*.



**Fotografía E.** Resultados del tamizado antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Machaerium* sp. para MRSA.



**Fotografía F.** Resultados del tamizado antimicrobiano a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *A. adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose para *E. coli*.



**Fotografía G.** Identificación de la CIM y de la CBM del extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks para *P. aeruginosa*.



**Fotografía H.** Crecimiento de KPC en el plato que contiene el extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks

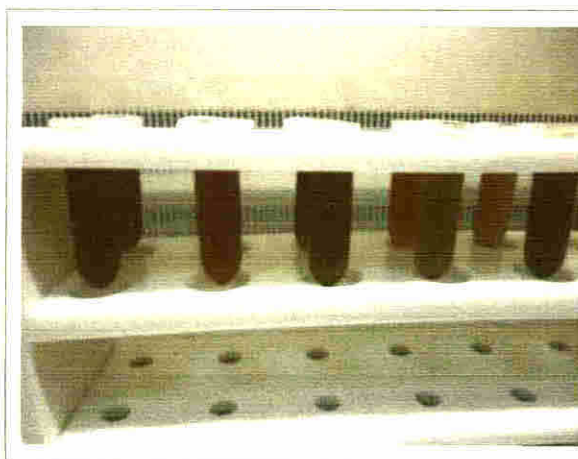


**Fotografía I.** Identificación de la CIM y de la CBM del extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks para KPC.



**Fotografía J.** Identificación de la CIM del extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks para KPC.





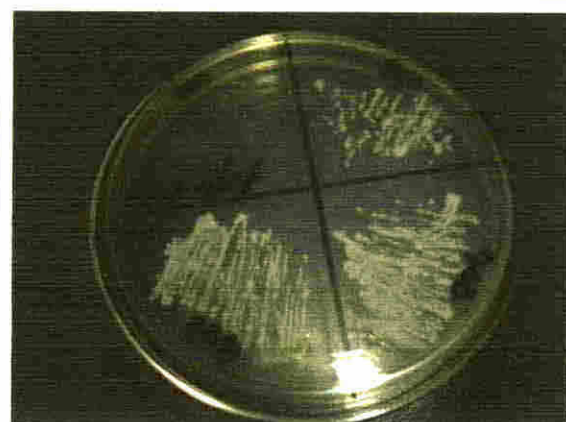
**Fotografía K.** Disolución de los diferentes extracto en DMSO al 25%.



**Fotografía L.** Preparación de macrodilución en tubo para los diferentes extractos bajo cámara de bioseguridad.



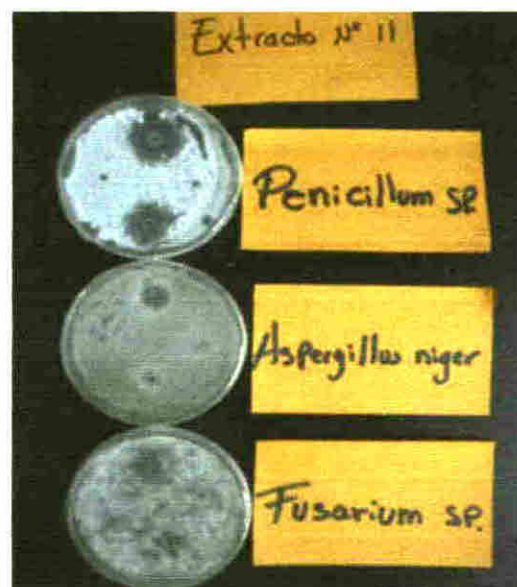
**Fotografía M.** Sembrado de las diferentes macrodiluciones para confirmar el valor de la CIM y de la CBM.



**Fotografía N.** Identificación de la CIM (900 µg/mL) para *S. aureus*.



**Fotografía R.** Formación de los pocillos en agar Sabouraud para la determinación de actividad antimicótica.



**Fotografía S.** Actividad antimicótica del extracto metanólico de *A. adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose.



**Fotografía T.** Actividad antimicótica del extracto metanólico de *Macropodium lathyroides* (L.) Urban ante *C. albicans*.

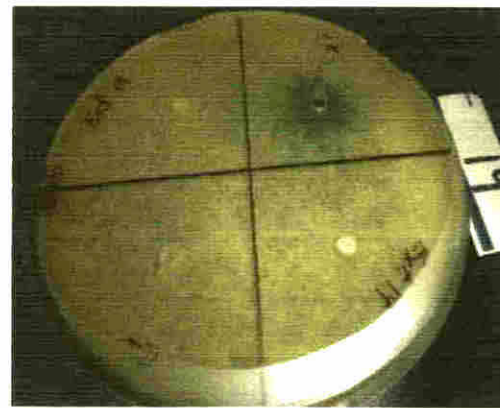


**Fotografía U.** Actividad antimicótica del extracto metanólico de *Dalbergia brownii* (Jacq.) Schinz ante *C. albicans*.

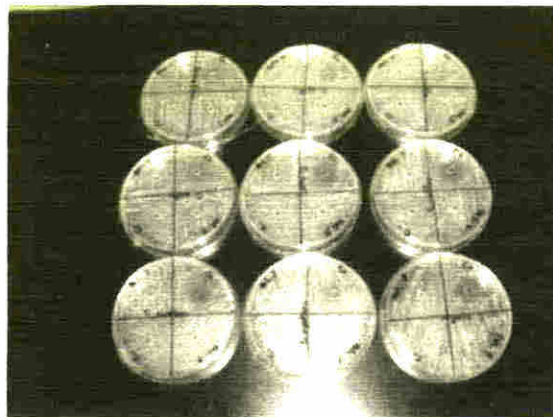




**Fotografía W.** Actividad antimicótica del extracto metanólico de *Diplotropis purpurea* (Rich.) Amshoff ante *Fusarium sp.*



**Fotografía X.** Actividad antimicótica del extracto metanólico de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks ante *Fusarium sp.*



**Fotografía Y.** Actividad antimicótica de los diferentes extracto metanólico ante *Cryptococcus neoformans*.



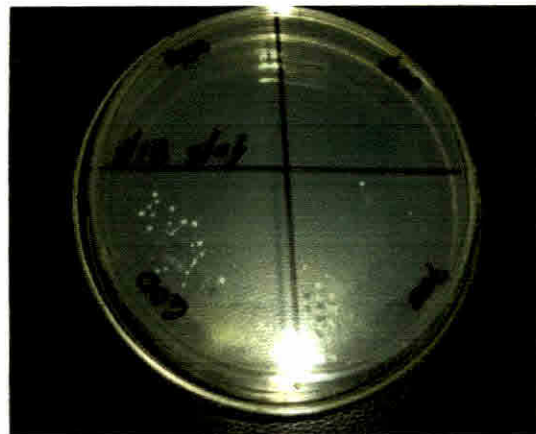
**Fotografía Z.** Actividad antimicótica del extracto metanólico de *Dalbergia brownii* (Jacq.) Schinz ante *Cryptococcus neoformans*.



**Fotografía Ñ.** Identificación de la CIM (900 µg/mL) para *K. pneumoniae*.



**Fotografía O.** Identificación de la CIM (700 µg/mL) y de la CBM (800 µg/mL) para *B. subtilis*.



**Fotografía P.** Identificación de la CIM (700 µg/mL) y de la CBM (800 µg/mL) para *S. aureus*.



**Fotografía Q.** Identificación de la CIM (800 µg/mL) y de la CBM (900 µg/mL) para *S. aureus*.